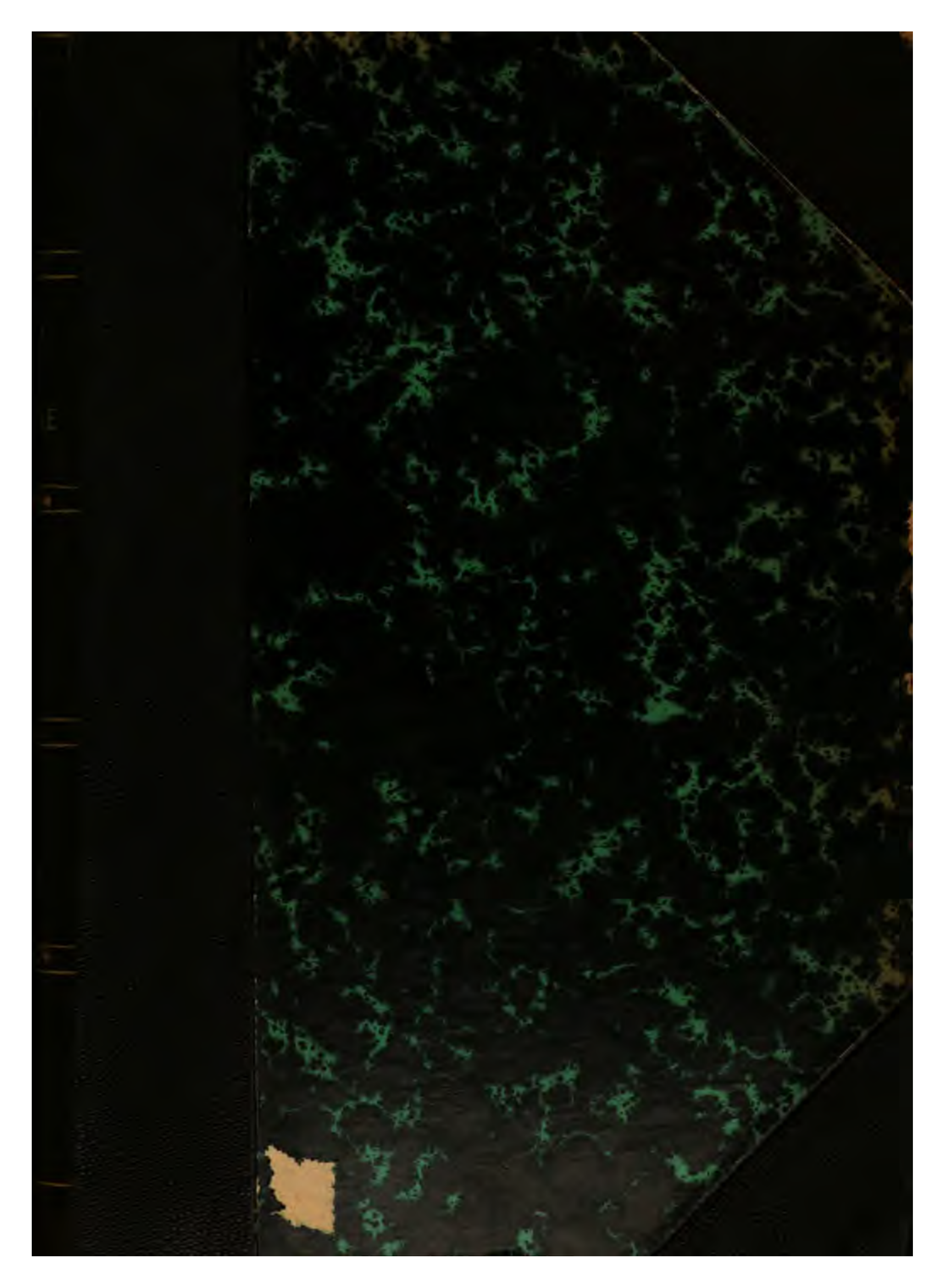
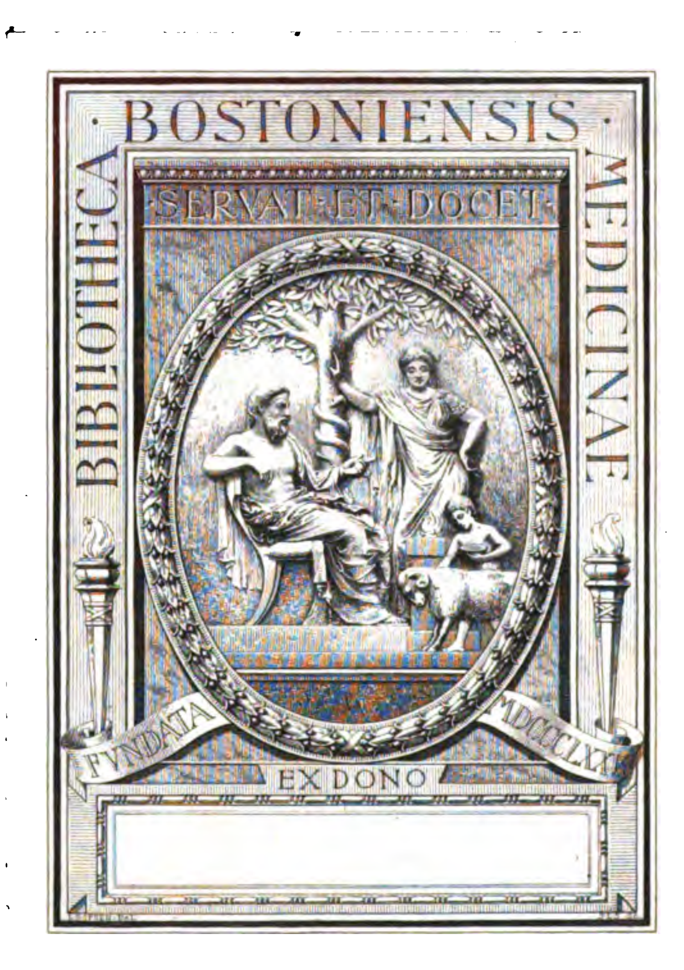
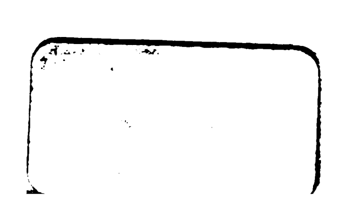



BIBLIOTHECA · BOSTONIENSIS · MEDICINAE
SERVAT·ET·DOCET
FVNDATA
MDCCCLXX
EX DONO



ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

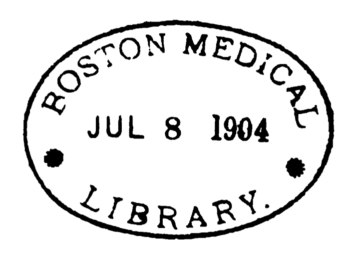
STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

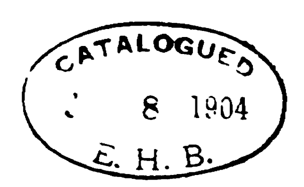
NEUNUNDVIERZIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1904.


BOSTON MEDICAL
JUL 8 1904
LIBRARY.


CATALOGUED
8 1904
E. H. B.

Inhalt.



Die Ergebnisse der neuesten Forschungen auf dem Gebiet der Malariaepidemiologie[1]).

Von

Dr. A. Plehn,
kais. Regierungsarzt a. D.

Als die grofse Entdeckung des englischen Militärarztes Ronald Rofs von der Übertragbarkeit der Malariakrankheiten durch bestimmte Mückenarten bekannt wurde, da erhob sich mancher Widerspruch. Selbst die bestätigenden Untersuchungen von Grassi, Celli, Koch und deren Schülern liefsen ihn nicht gleich verstummen. Die Bedenken, welche damals von verschiedenen Seiten — auch von mir — geäufsert wurden, müssen auf Grund der weiteren Experimente heute als beseitigt gelten. Es darf nicht mehr bezweifelt werden, dafs die Malaria durch infizierte Mücken übertragen werden kann, und dafs diese Übertragungsweise in vielen Gegenden offenbar mindestens die Hauptrolle spielt. Wenn aber die Möglichkeit der Malariaübertragung durch Mücken einwandfrei erwiesen ist, so müfste man von vornherein annehmen, dafs diese Verbreitungsweise der Krankheit auch die einzige sei.

Die zahlreichen Untersuchungen und Beobachtungen der letzten Jahre haben jedoch manche Tatsachen kennen gelehrt, welche mit dem, was wir bis jetzt über die Mücken und die Parasiten wissen — oder zu wissen glauben — kaum in Einklang zu bringen sind.

1) Auszugsweise in der Sitzung der ›Berliner med. Gesellschaft‹ am 22. Juli 1903 vorgetragen.

Bevor ich über meine eigenen Untersuchungen in Kamerun berichte, möchte ich den Entwicklungsgang des Malariaparasiten, wie man ihn gegenwärtig auffaſst, kurz in die Erinnerung zurückrufen.

Die Vermehrung der Hämosporidien geschieht auf geschlechtlichem und auf ungeschlechtlichem Wege, wie bei allen Coccidien, denen man die Malariaparasiten ja gegenwärtig zurechnet.

Die ungeschlechtliche Vermehrung erfolgt im Menschen, und zwar in den roten Blutkörperchen durch direkte Teilung. Mit dieser werden die jungen Amöben aus der Wirtszelle, dem roten Blutkörperchen, frei, dringen in andere Blutzellen ein, wachsen dort aus und wiederholen die Teilung. Wenn dieser Zyklus mehr oder weniger oft durchlaufen ist, entwickelt sich ein Teil der jungen Plasmodien nicht mehr zu Teilungskörpern, sondern bildet sich zu Gametocyten um, welche in wärmeren Gegenden als sog. Halbmonde im Blute kreisen. Aus diesen Gametocyten entstehen — meist wohl erst nach Verlassen des Warmblüterkörpers, also im Mückendarm, oder unter Umständen auf dem Objektträger — die beiden Geschlechtsformen, die Makrogameten und die Mikrogametocyten. Von letzteren lösen sich die fadenförmigen Mikrogameten los, um in die Makrogameten einzudringen und diese zu befruchten, wie die Spermatozoen die Eizellen. Der befruchtete Makrogamet ändert alsbald seine Gestalt; er streckt sich, wird wurmförmig und erhält Eigenbewegung. Das befähigt ihn, die Darmschleimhaut der Mücke zu durchwandern. Unter der Elasticomuskularis des Mitteldarms wird er zur Oocyste, und in je nach der Auſsentemperatur wechselnder Zeit von 8—18 Tagen entwickeln sich in dieser die Sporozoiten zu voller Reife. Die Cyste platzt und die Sporozoiten gelangen in die Leibeshöhle. Sie sammeln sich dann — wohl unter chemotaktischen Einflüssen — in den Speicheldrüsen und werden durch den Stich der Mücke wieder auf den Menschen übertragen.

Als ich im März 1900 nach Kamerun zurückkehrte, wandte ich der praktisch so wichtigen Frage der Mückenübertragung natürlich sofort mein Interesse zu.

In Widerspruch mit der neuen Lehre schien damals in Kamerun zu stehen:

Die ganz auſserordentliche Seltenheit aller Arten von Stechmücken (demnach auch der Anopheles) und die noch gröſsere Seltenheit, ja das monatelange vollkommene Fehlen der Gameten bei den bis dahin allein berücksichtigten Europäern auf der einen Seite; — auf der andern, eine Erkrankungshäufigkeit der Europäer von 65 % während meiner ersten, 35 % während meiner zweiten Tätigkeitszeit bereits im ersten Aufenthaltsmonat, also Infektion in den ersten 14 Tagen.

Die grofse Seltenheit der Anopheles auf der Jofsplatte — meinem Wirkungskreis — begünstigte exaktere Beobachtungen über ihre Gewohnheiten und über ihr Vorkommen in den einzelnen Monaten, als sie in Gegenden möglich sind, welche während der drei wärmeren Jahreszeiten von Mücken wimmeln.

Ich fasse die Ergebnisse aus der ganzen Beobachtungszeit kurz zusammen:

Es zeigte sich, dafs auf der Jofsplatte und in ihrer nächsten Umgebung praktisch nur der Anopheles costalis eine Rolle spielt; etwas weiter stromaufwärts überwiegt der Anopheles funestus. Andere Arten, wie sie Ziemann gesammelt hat, scheinen mir nur Seltenheiten zu sein.

Aus den verschiedensten Beobachtungen in andern Ländern ergibt sich, dafs der Anopheles in der Wahl seines Brutgewässers keineswegs so anspruchsvoll ist, wie man lange glaubte; van Gorkom hat bezügliche Beobachtungen aus Afrika, Asien, England zusammengestellt.[1]) Ziemann fand in Kamerun die Larven sogar in Wasser mit 0,75 proz. Salzgehalt, und während meiner letzten Anwesenheit wurden sie in einem Waschfafs und einem Gefäfs aus Eisenblech entdeckt. Wenn ihre Zahl trotzdem gering, die der geflügelten Insekten verhältnismäfsig noch viel geringer bleibt, so hat das seinen Grund zweifellos in dem starken Regenfall, welcher in wolkenbruchartigen Güssen alle natürlichen und künstlichen Wasserplätze immer wieder ausschwemmt. Der Jahresdurchschnitt des Regenfalls auf der Jofsplatte schwankt zwischen 3500 und 5000 mm. Bleiben einige Tage regenfrei, so verschwinden selbst umfangreiche Wasseransammlungen unglaublich schnell, und ihr Grund verwandelt sich nicht etwa in Sumpf, sondern gewinnt eine ziegelharte, rissige Beschaffenheit, welche kein höher organisiertes Leben gestattet. Ich habe feststellen können, dafs tote Gräben mit 0,75 m Wasserstand diese Beschaffenheit in 2×24 Stunden annahmen.

Trotz dessen sind die Anopheles in der Regenzeit immer noch häufiger als in der Trockenzeit, wo sie zeitweilig fast vollkommen zu fehlen scheinen. In der Trockenzeit herrschen spärliche Culiciden vor.

Von verschiedenen Seiten ist wiederholt darauf aufmerksam gemacht worden, dafs die gewohnheitsmäfsige Flugweite des Anopheles eine relativ geringe ist. Ich kann das bestätigen und glaube sogar, dafs sie noch viel geringer ist, als man gewöhnlich annimmt. Sonst wäre die konstant verschiedene Häufigkeit der Mücken in nahe beieinander gelegenen Gebäuden schwer zu erklären. Jedenfalls steht fest, dafs die im Kamerunflufs, etwa 400—500 m vom Ufer ankernden Kriegsschiffe niemals von Mücken besucht werden.

Dagegen ist es sicher nur in beschränktem Mafse richtig, dafs viele Mücken deshalb der Wahrnehmung entgehen, weil sie nur als vorübergehende Besucher des Nachts in den Wohnungen erscheinen. Im Europäer-

1) Geneeskundig tijdschrift voor Nederlandsch Indie, Deel XLII, Aufl. 5.

hospital bot sich reichlich Gelegenheit, sowohl durch schlaflose Patienten, als auch durch die Nachtwachen Beobachtungen machen zu lassen, und ich selbst war dazu ebenfalls in der Lage, denn ich pflegte allabendlich bis Mitternacht unter der offenen Veranda zu sitzen. Anopheles waren da nur ganz vereinzelt zu Zeiten bemerkbar, wo man sie über Tag in den Hausräumen ebenfalls antraf. Culices waren übrigens fast jederzeit ähnlich selten.

Wenn die Anopheles keine Gelegenheit zum Blutsaugen gefunden haben, so verlassen sie doch nicht immer die Wohnungen, in welche sie eingedrungen sind: Von 1136 Anopheles wurde der Füllungszustand des Darms notiert, als man sie über Tag in bewohnten Räumen gefangen hatte, und es ergab sich, dafs 327 davon nüchtern waren. Dabei ist bemerkenswert, dafs bis in den September hinein die nüchternen Anopheles in den Wohnräumen nicht viel seltener waren, als die mit blutgefülltem Magen, während später beinahe jeder gestochen und gesogen hatte.

Es scheint, dafs die Ausdünstung der Neger eine besondere Anziehungskraft auf die Mücken ausübt. Vom Juni bis November 1901 konnten in den regelmäfsig abgesuchten Räumlichkeiten des Europäerhospitals und des Doktorhauses im ganzen nur 83 Anopheles gesammelt werden. In den unmittelbar benachbarten Schlafräumen der farbigen Bedienung, in den Wohnungen der eingeborenen Gehilfen und im Hospital für Eingeborene wurden gleichzeitig 395 Exemplare gefangen, obgleich diese Gebäude — namentlich das Eingeborenenhospital — sich in ihrer Beschaffenheit keineswegs derart von den für Europäer bestimmten Baulichkeiten unterscheiden, dafs die Vorliebe der Mücken für erstere in dort herrschendem Mangel von Luft und Licht begründet sein könnte. Weiter fiel auf, dafs die Mücken die ständig mit Dysenteriekranken belegten Räume besonders bevorzugten, trotzdem sie ebenso lagen und ebenso eingerichtet waren wie die übrigen — abgesehen von den darin aufgestellten Kloseteimern. Von 140 Anopheles aus dem Eingeborenenhospital stammten 114 aus den Dysenteriezimmern — 26 aus allen andern Räumlichkeiten zusammen. Es scheint aber, dafs es nicht die Lust zu stechen allein ist, welche die Mücken in die menschlichen Wohnungen zieht: Sie suchen dort auch Schutz vor dem Regen. Die Beute der Mückensucher nach Regengüssen war stets besonders grofs, und in den kontrollierten Räumen des Hospitals und Doktorhauses wurden die wenigen Anopheles fast ausschliefslich nach starkem Regenfall gefangen. In demselben Sinne wirkt offenbar stärkere Luftbewegung. Die Mücken werden dadurch sicher nur ganz ausnahmsweise mit fortgeführt; sie suchen vielmehr in Gebäuden und an andern geschützten Stellen Deckung vor dem Winde, der ihnen offenbar sehr unangenehm ist. Ich stimme Celli hier vollkommen bei.

Männchen wurden mir aus den Wohnungen häufig gebracht.

Der Anopheles costalis ist durchaus nicht stimmlos, wie es von einigen seiner Vettern behauptet wird. Er summt, bevor er sticht, wenn auch wegen seiner geringen Gröfse wohl etwas leiser und tiefer als die meisten Culexarten. Sein Stich ist jedoch trotz dieser geringeren Gröfse ebenso schmerzhaft und erzeugt auf empfindlicher Haut dieselbe Quaddel,

wie der des Culex im engeren Sinne. Ein Grund, ihn weniger leicht zu bemerken als die Culices ist also nicht gegeben.

Es ist verschiedentlich, auch von Ziemann in Kamerun, berichtet worden, dafs die Anopheles am Tage stechen[1]). Das geschieht aber doch wohl nur ganz ausnahmsweise, z. B. in der Dämmerung des dichten Waldes, oder wenn die Mücken in ihren dunkeln Schlupfwinkeln gestört werden. Jedenfalls sind unsere Versuche, die Anopheles in der Gefangenschaft über Tag, selbst in der Dunkelkammer, zum Stechen zu bringen, fast immer erfolglos geblieben, so dafs die Schwester, welche sich mit dem Mückenpark in meinem Laboratorium zu beschäftigen hatte, trotz der grofsen damit verbundenen Unbequemlichkeiten gezwungen war, die Fütterungen ausschliefslich abends vorzunehmen.

Um zwecks vorläufiger Orientierung lebende Mücken zu bekommen, liefs ich eine gröfsere Anzahl zweckmäfsiger kleiner Käschernetze anfertigen und verteilte sie an die Hospitalinsassen, die Schwestern, die Wärter. Ich selber mit meinen Bediensteten revidierte mein eigenes Haus, die Pferde- und Hühnerställe etc.

Jeder Anopheles wurde für sich in einem Reagensglase tunlichst lange am Leben erhalten. Die Schwestern gaben sich dankenswerterweise dazu her, alle diese Anopheles zu ernähren, indem sie sich jeden zweiten Tag von ihnen stechen liefsen; ein Teil der Rekonvaleszenten unterstützte sie darin. Über jeden Anopheles wurde Journal geführt.

Vom 28. März 1900 bis zum 20. März 1901 wurden im Hospital im ganzen 17 Anopheles gesammelt, und zwar April und Mai 0; Juni 3; Juli 9; August 3; September 2. Die Zahl der im Doktorhaus und den dazu gehörigen Baulichkeiten gefangenen Anopheles ist nicht genau notiert, betrug aber kaum ein Dutzend.

Die Schwestern wurden von den 17 Anopheles zusammen 49 mal zu verschiedenen Zeiten gestochen; dafs sie nicht unmittelbar nach der gewöhnlichen Inkubationszeit erkrankten, beweist natürlich gar nichts, da nicht festgestellt worden ist, ob

---

1) »Über die Beziehungen der Mosquitos zu den Malariaparasiten in Kamerun.« Von Marinestabsarzt Dr. Hans Ziemann. Deutsche med. Wochenschr., 1900, Nr. 25.

»Zweiter Bericht über Malaria und Mosquitos an der afrikanischen Westküste.« Derselbe, ebenda, 1900, Nr. 47 u. 48.

diese Anopheles infiziert waren. Einige Monate später erkrankten sie; ob infolge jener Stiche bleibt zweifelhaft, denn noch kein Europäer ist auch sonst der Malaria in Kamerun entgangen.

Vom Oktober 1900 ab war kein Anopheles mehr zu erhalten, obgleich ich eine Prämie von 50 Pfg. auf das einzelne Exemplar gesetzt hatte. Erst Ende März 1901 erhielt ich wieder einen Anopheles (funestus) und bis zum 9. April 7 costales. Die Kollegen von der Schutztruppe hatten bis zum 9. April 1901 3 Anopheles zusammengebracht; die von der Marine seit Oktober 1900 keinen einzigen. Vom 9. April bis zum 24. Mai 1901 bekam ich trotz der Prämien und eifrigen Bemühungen meiner Leute, welchen befohlen war, auch in den Eingeborenenhütten zu suchen, nur noch einen Anopheles. Erst in der zweiten Hälfte des Juni nahm ihre Zahl wesentlich zu, und im Juli und August erhielt ich täglich 6—25 Stück aus den Negerhütten, so dafs ich die Prämien allmählich herabsetzte.

Neben der Revision von Negerhütten wurde seit Mai 1901 ein planmäfsiges Absuchen bestimmter Gebäude organisiert. Meine Gehilfen hatten täglich zu revidieren: Das Europäerhospital mit den Wirtschaftsgebäuden, den Bedienstetenwohnungen, Ställen etc.; das Eingeborenenhospital mit dazugehöriger Küche, Klosets etc.; ihre eigenen beiden Wohnhäuser mit den Küchen; das Doktorhaus mit den Nebenräumen: Küche, Vorratskammer, Pferde-, Hühnerställe. Hier wurden sie von meinen Bediensteten unterstützt.

Die betreffenden Gebäude besetzen die gegenüberliegenden Schmalseiten einer Fläche von etwa 300 m Länge und 200 m Breite in verschiedener Entfernung voneinander. Das Absuchen wurde bis in den November Tag für Tag wiederholt, um eine Übersicht über die Häufigkeit der Anopheles in den verschiedenen Monaten zu gewinnen.

Die in den Negerhütten gefangenen Anopheles wurden gleichfalls prämiiert. So hatten meine Leute kein Interesse daran, mich event. über die Herkunft der gefangenen Mücken zu täuschen, und ich erhielt mehr Untersuchungsmaterial, als die der offiziellen Kontrolle unterworfenen Häuser zu liefern vermochten.

Ich revidierte häufig selbst, und für den Fall, dafs ich eine Mücke in den regelmäfsig abzusuchenden Räumen fand, waren die Leute mit Strafe bedroht. Allerdings ist dieser Fall nie eingetreten, denn die Schwarzen suchen ganz vorzüglich, sobald sie wissen, worauf es ankommt. Es wurden gefangen:

In den regelmäfsig kontrollierten Gebäuden:

Mai	Juni	Juli	August	September 1.	September 2. Hälfte	Oktober	bis 19. November
2?	13	98	127	52	36	51	30
				88			

Davon in den Europäerwohnungen

(Hospital, Doktorhaus etc.):

Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November
2?	10	8	7	8	0	0

Aufserdem in Negerhütten:

Mai	Juni	Juli	August	September 1.	September 2. Hälfte	Oktober	November
0	2	238	390	182	62	93	24
				244			

Aber können diese, mühevoll in ihren Schlupfwinkeln aufgesuchten Anopheles als Mafsstab für die dem Europäer drohende Infektionsgefahr gelten? Ich glaube, dafs man diese Frage nicht ohne weiteres bejahen darf, denn die Mücken müssen mit dem Europäer doch in direkte Berührung kommen, um ihn infizieren zu können. In der Regenzeit 1901, als mir täglich 6—25 Anopheles gebracht wurden, ritt ich jeden Nachmittag etwa eine Meile weit auf die Jagd und kehrte erst nach Sonnenuntergang in völliger Dunkelheit zurück. Der schmale Fufspfad führte durch Busch, Wald, Sumpf, Wasserläufe und Negerniederlassungen, und konnte heimwärts nur im Schritt zurückgelegt werden. Dabei habe ich niemals irgend etwas von einer Mücke wahrgenommen, weder solange ich um Sonnenuntergang an den waldigen Rändern der Wasserstellen auf dem Anstand mich befand, noch bei der langsamen Heimkehr im Dunkeln. — Während ich dann bis Mitternacht im Garten in der allseits offenen Veranda safs, wurde

der weifsleinene Rock abgelegt und der Oberkörper blieb nur mit einem kurzärmligen baumwollenen Trikothemde bedeckt, welches keinerlei Schutz gegen Mückenstich gewährt. Aufser einigen Culices habe ich im ganzen drei Anopheles mit dem stets bereit liegenden Netze gefangen, die entgegen der geltenden Regel nach der Lampe kamen. (Ich bin aufserordentlich empfindlich gegen Mückenstiche; sie erzeugen auf meiner Haut eine Quaddel, die wochenlang juckt. Mir entgeht also ganz gewifs kein Stich).

Diese Lebensweise konnte ich während der vier Regenmonate führen, ohne jemals gestochen zu werden, und das zu einer Zeit, welche mir ungefähr $^{19}/_{20}$ sämtlicher Anopheles lieferte, die ich in Kamerun gesammelt habe, nämlich 1329 von 1399!

Zu andern Zeiten mag es in Kamerun anders gewesen sein — während meiner mehr als fünfjährigen Anwesenheit dort aber kaum. Auch scheinen die Verhältnisse nicht auf der Josplatte allein so zu liegen. Im Oktober 1901 machte ich eine vierwöchentliche Studienreise, die mich längere Zeit auch in den Bereich des Wuri und Mungo und deren Zuflüsse führte. Ich hatte mich auf Mückensammeln eingerichtet und fing am Dibombe und Bome unter anderen auch einige Exemplare von A. funestus. Gegen Ende Oktober jedoch, als ich in den Bereich des Mungo kam, welcher wegen der dort herrschenden schweren Malaria ganz besonders verrufen ist, habe ich nicht eine einzige Mücke mehr bemerkt — sei es Culex oder Anopheles.

Was wird aber aus den Anopheles in der Trockenzeit? Sich zu verbergen, wie im Winter in den gemäfsigten Zonen, haben sie kaum Veranlassung. Vielleicht zerstreuen sie sich zum Teil in Busch und Wald, von wo sie die Regengüsse und Stürme bei Beginn der nächsten Regenperiode wieder in den besseren Schutz der Gebäude treiben. Die meisten aber dürften gegen Ende der Regenzeit zugrunde gehen, weil ihre normale Lebensdauer sich ihrem Ende nähert. Ich schliefse das daraus, dafs die Zahl der Anopheles in der zweiten Hälfte des Septembers, wo die Niederschläge noch überreichlich sind, bereits rasch abnimmt, und dafs sich von dann ab die Anopheles in der Gefangenschaft nicht mehr solange am Leben erhalten lassen wie vorher, sondern unter ganz gleichen Bedingungen viel früher sterben, also weniger lebenskräftig sind. Eine rasche Abnahme der Anopheles gegen den Herbst hin, welche durch meteorologische

Verhältnisse nicht bedingt sein kann, wird auch in Italien vielfach beobachtet.[1])

Der zweite Punkt — die grofse Seltenheit der Gameten im Blute malariakranker Europäer — ist durch die aufserordentliche Virulenz der Parasiten in Kamerun begründet.[2]) Ich kenne keine Krankheit — Pest und Cholera eingeschlossen, — welche, sich selbst überlassen, eine ähnliche Mortalität besitzt, wie die Kameruner Malaria. Man kann dieselbe als eine fast absolute bezeichnen, denn während der acht Jahre, durch welche ich die Schicksale der meisten Kolonisten verfolgen konnte, ist mir nicht ein Fall bekannt geworden, wo unter fortgesetztem Verzicht auf das Allheilmittel, das Chinin, wenigstens das Erstlingsfieber nicht tödlich geendet hätte. Das Erstlingsfieber verläuft besonders schnell und der Tod tritt zuweilen schon am dritten bis fünften Tage ein, wenn nicht sofort Chinin gegeben wird. — Aber auch bei den späteren Rezidiven oder Reinfektionen droht tödlicher Ausgang ohne rechtzeitige Chininmedikation. — Unter diesen Umständen kommt es nicht zur Gametenbildung, die ja überall erst stattfindet, nachdem eine Reihe ungeschlechtlicher Generationen sich gefolgt sind: der Kranke stirbt entweder vorher, oder er vernichtet die aktiven Parasiten mit Chinin, ehe sie sich zu Gameten umbilden. — Daher habe ich Gametenbildung bei Europäern nur in verschleppten Fällen gesehen, wo die manifeste Infektion durch ungenügende, unzweckmäfsige Chininbehandlung abgeschwächt, nicht vernichtet wurde. Das kommt aber nur selten vor, da alle Leute ganz präzise Vorschriften für ihre Fieberbehandlung von mir erhalten und meist befolgen.

Anders gestaltet sich die Sache bei den Eingeborenen. Im Anschlufs an Blutuntersuchungen in dem malariafreien Buea konstatierte ich schon 1898, dafs die westafrikanischen Neger vielfach Malariaparasiten in ihrem Blute führen, ohne irgendwelche

1) Atti della Società per gli Studi della Malaria. Vol. III. Roma, 1902.

2) Ich habe keine genaue Zusammenstellung betreffs Häufigkeit der Halbmonde bei den Europäern in Kamerun gemacht; Ziemann berichtet, dafs er sie bei weit mehr als 1000 Blutuntersuchungen nur zwölfmal ganz vereinzelt nachweisen konnte. (Deutsche med. Wochenschr., 1900, Nr. 25.)

Krankheitserscheinungen zu zeigen.[1]) Als Kochs Beobachtungen an Kindern dann die Aufmerksamkeit von neuem auf die Eingeborenenmalaria lenkten, nahm ich die Negeruntersuchungen wieder auf. Es ergab sich, dafs in Kamerun einige 90% sämtlicher Kinder, aber auch etwa 50% der Erwachsenen zum Teil aufserordentlich reichlich Malariaparasiten beherbergen, ohne deshalb krank zu erscheinen.[2]) Ziemann hat ähnliche Beobachtungen in Togo gemacht[3]), Manson, Christophers und Steffens berichten dasselbe[4])[5]), und es hat sich inzwischen ergeben, dafs die Verhältnisse in Ostafrika entsprechend liegen. Hier bei den relativ immunen Eingeborenen ist also die Möglichkeit zur Gametenbildung in weiterem Umfang gegeben, und in der Tat fand ich Halbmonde bei 13% der parasitenführenden Kinder und bei 5% der infizierten Erwachsenen; freilich fast immer erst nach sehr langem Suchen, also in geringer Anzahl. Panse fand sie in Tanga (Ostafrika) nur 15 mal bei etwa 800 Eingeborenen mit Parasiten im Blut. Daran mögen, wie er angibt, die meist nur flüchtigen Untersuchungen teilweise schuld gewesen sein, welche er gröfstenteils von Laien ausführen liefs.[6]) Aber auffallend niedrig erscheinen alle diese Zahlen doch, wenn man berücksichtigt, dafs in manchen Gegenden Süditaliens zeitweise 70, ja 90% der Infizierten Halbmonde führen. (Martirano, Tanzarella u. a.)[7])

Aber immerhin dürfte Mangel an Übertragungsmaterial mit Rücksicht auf die Verhältnisse bei den Eingeborenen als Einwand gegen die Lehre von der Malariaverbreitung durch die Anopheles-

1) »Weiteres über Malaria; Immunität und Latenzperiode.« Jena, G. Fischer, 1901.

2) »Die Malaria der afrikanischen Negerbevölkerung, besonders mit Bezug auf die Immunitätsfrage.« Jena, G. Fischer, 1902.

3) »Zweiter Bericht über Malaria und Mosquitos an der afrikanischen Westküste.« Deutsche med. Wochenschr., 1900, Nr. 47—48.

4) »Aetiology, prophylaxis and treatment of malaria.« »The Prakticioner«, March, 1901.

5) »Rapports to the Malaria Committee 1901.«

6) »Die Malaria unter den Eingeborenen in Tanga.« Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene, 1902, Nr. 12.

7) Atti, 1902, l. c.

mücken in Kamerun kaum mehr gelten können. Man sollte vielmehr erwarten, einen noch höheren Prozentsatz dieser Mücken infiziert zu finden, als er anscheinend infiziert ist.

Ziemann gelang es trotz sorgfältiger Sektion vieler Hunderter von Mosquitos auf der Jofsplatte und auch flufsaufwärts, niemals, in den Speicheldrüsen und im Darm frisch gefangener Culices oder Anopheles Sichelkeime oder Cysten zu finden.[1]) Von den 1399 weiblichen Anopheles, die ich im ganzen sammeln konnte, sind bis jetzt 953 genau untersucht worden. Davon waren etwa 10% unbrauchbar dadurch, dafs sie entweder nicht unmittelbar nach dem Tode in Alkohol gebracht werden konten, oder dafs sie bei der Präparation verdarben. Von den übrigen waren bei sieben die Speicheldrüsen allein, bei acht der Mitteldarm allein, bei vieren Darm und Speicheldrüsen infiziert. Im ganzen fand sich also die Infektion bei 2,2% der untersuchten Anopheles.

Es wurden 68 Mücken, wie üblich, frisch in 0,9 proz. Kochsalzlösung untersucht. Die übrigen wurden in Alkohol aufgehoben, um dann in Deutschland bearbeitet zu werden. Den Herren, welche mich dabei unterstützt haben, insbesondere Herrn Prof. Grawitz, den Herren Dr. Eysell (Kassel) und Dr. Löwenthal, sage ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank. — Die Hauptarbeit fiel freilich mir selber zu, und wenn es mir möglich wurde, den gröfsten Teil derselben in wenigen Monaten zu bewältigen, so verdanke ich das der liberalen Unterstützung seitens der Kolonialabteilung des Auswärtigen Amtes.

Die Präparation, welche Frau Meyer-Brodnitz mit grofser Geschicklichkeit ausführte, gestaltete sich sehr einfach. Die Mücke wurde der Flügel, der Beine, meist auch des Kopfes beraubt, und das letzte Leibessegment mit scharfer Schere abgetrennt (was aber nicht unbedingt nötig ist). Dann wurde der absolute Alkohol, in dem ich die Mücken konservierte, noch zweimal gewechselt, das Objekt für 1 Tag in Chloroform, für 1—2 Tage in Chloroform-Paraffin gelegt und dann in Paraffin eingebettet. Sehr wichtig zeigte sich, dafs das Paraffin schon recht oft geschmolzen und dadurch zähe geworden ist.

Hierauf wurde die Mücke in gewöhnlicher Weise mittels guter, frisch geschliffener Messer in Serienlängsschnitte von 7 μ zerlegt. War der Magen nicht mit Blut gefüllt, so gelang tadellose Präparation fast immer. Der gefüllte Magen bearbeitete sich oft schlecht. Gefärbt wurde nach van Gieson, was sehr schöne Bilder gibt.

In Zukunft läfst sich das Verfahren dadurch wesentlich verbessern, dafs man die Mücken tunlichst tötet, sobald sie verdaut haben und ihr

1) a. a. O. Später fand Ziemann einige infizierte Anopheles in den Wohnungen von Kakaopflanzern in Viktoria, die Gameten im Blut hatten.

natürliches Ende nicht abwartet, sowie dadurch, dafs man den letzten Leibesring schon frisch abtrennt, um schnelles Eindringen des Alkohols zu erleichtern.

Bezüglich des Befundes ist nur zu bemerken, dafs die voll entwickelten Zysten mit reifen Sporozoiten auffallend klein waren: 30—40 μ im gröfsten Durchmesser, sowie, dafs die Sporozoiten den Mittellappen der Speicheldrüse vor den Seitenlappen nicht besonders zu bevorzugen schienen. Doch mag das mit Rücksicht auf die geringe Zahl der tatsächlich gefundenen Infektionen auch Zufall gewesen sein. Mein Bestreben war nun darauf gerichtet, die Entwicklungsstadien der Kamerunparasiten im Anopheles exakt zu studieren, d. h. durch künstliche Infektion aus Larven gezüchteter, also sicher steriler Mücken die Formen der Parasiten in verschiedenem Alter kennen zu lernen. Aber bei der Seltenheit von Mücken und Gameten standen mir beide gleichzeitig nur ganz ausnahmsweise zur Verfügung. (Ich habe niemals später als sechs Wochen nach dem letzten Fieberanfall noch Gameten im Blut angetroffen, und in den letzten 3—4 Wochen waren sie dann schon so selten, dafs man nach den Erfahrungen von anderer Seite kaum mehr auf das Gelingen einer Infektion rechnen durfte.) Nur fünfmal konnte ich mit zusammen 46 Anopheles Infektionsversuche machen. Freilich mit gefangenen, nicht mit gezüchteten Anopheles. Letztere kann man nicht ständig in Vorrat halten, bis sich alle paar Monate einmal ein gametenführender Patient zeigt. Bei meinen Versuchen war das insofern irrelevant, als mir keine Infektion gelang. (Ziemann ist darin glücklicher gewesen).[1])

Ich möchte daran erinnern, dafs Ronald Rofs in seinem ersten Bericht aus Sierra Leone ebenfalls mitgeteilt hat, es sei ihm dort — im Gegensatz zu Indien — nie geglückt, die Anopheles zu infizieren. Koch in Grosseto hatte wenig Erfolg[2]), und Martirano weist auf den Gegensatz hin, in welchem die Seltenheit infizierter Anopheles in den Hütten einiger Gegenden Italiens zur Zahl der reichlich Gameten führenden Bewohner stand. Celli suchte die Immunität gewisser Gebiete um Lucca und Pisa mit der Schwierigkeit zu erklären, welche er hatte, von dort stammende Anopheles künstlich zu infizieren; doch wird ihm darin von Grassi wider-

1) a. a. O.

2) Berichte der Malariaexpedition 1899. Deutsche med. Wochenschrift.

sprochen, der für die Anopheles von Massarossa nachwies, dafs sie durchaus empfänglich sind. Auch sonst sind ähnliche Beobachtungen gemacht worden, ohne dafs es eine plausible Erklärung dafür gäbe, denn die Annahme einer angeborenen Immunität mancher Anopheles dürfte als solche ebensowenig gelten können, wie die frühere Behauptung, dafs die Anwesenheit von männlichen Anopheles nötig sei, um die Infektion zustande kommen zu lassen.

Eine bessere Begründung hat der niederländische Forscher Schoo in einer interessanten Veröffentlichung seiner Malariabeobachtungen gegeben.

Schoo fand, dafs die künstliche Infektion der Mücken meistens mifslang, wenn er sie mit Fruchtsäften ernährte, dafs sie aber fast ausnahmslos glückte, sobald er ihnen nur Wasser gab. Schoo schliefst daraus, dafs der Fruchtsaft im Magen der Mücke in saure Gärung gerate, und es dann zur Entwicklung gewisser Bakterien komme, welche die Infektion mit den Malariaparasiten verhindern. Ob der Zusammenhang ein solcher ist, mag dahingestellt bleiben. Sicher ist, dafs man einer Bakterieninfektion des Mückenmagens sehr häufig begegnet. Ich habe lange geschwankt, ob es sich hier nicht vielleicht um einfache Fäulnisprozesse handelt, welche platzgreifen, wenn die Mücke nicht sofort nach dem Tode in Alkohol kommt. Aber ich bin schliefslich zu der Meinung gelangt, dafs die Sache höchstens in einem kleinen Teil der Fälle so liegt, während es meistens spezifische Vorgänge sind, welche sich in der Mücke schon während des Lebens abspielen. Dafür spricht besonders, dafs sich in der Regel Reinkulturen einer kleinen Kokkenart fanden; seltener waren grobe Bazillen, noch seltener Kokken und Bazillen gleichzeitig vorhanden [1] [2]). Ob diese Kokkeninfektion mit der Ernährungsweise der Mücken zusammenhängt, vermag ich nicht zu entscheiden. Für meine Mücken könnte die Schoosche Erklärung zutreffen, denn sie wurden teilweise mit Bananen gefüttert, ebenso die Rofsschen. Celli gab Feigen und Melonen. Die Infektion mit Malariaparasiten wird durch die Kokkeninfektion aber nicht unbedingt verhindert, denn ich fand beide gleichzeitig bei derselben Mücke.

Doch sehr naheliegend erscheint mir der Gedanke, dafs die Ernährungsweise als solche — ohne Vermittelung von Bakterien — für das Mifslingen mancher Infektionsversuche verantwortlich ist. Man kann sich vorstellen, dafs der immer eine gewisse Säuremenge enthaltende Fruchtsaft das Mageninnere für die Weiterentwicklung der Gametocyten ungeeignet macht. Es wäre vielleicht nicht einmal nötig, dafs die Anopheles noch in der Gefangenschaft Fruchtsäfte erhalten hätten. Sie könnten sie schon in der Freiheit aufgenommen haben. In Kamerun ist dazu jedenfalls meistens Gelegenheit gegeben, und die Tatsache, dafs die Infektion auch bei den in der Gefangenschaft nicht mit Bananen gefütterten Anopheles mifsglückte,

---

1) Als interessanten Nebenbefund beobachtete ich einmal ausgedehnte Infusorieninfektion des Magens; ein anderes Mal psorospermienartige Schmarotzer in der Brustmuskulatur eines Anopheles.

2) Schüffner fand in Deli auf Sumatra grofse Bazillen unter ähnlichen Umständen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt., 1902, Bd. 41.

würde so erklärt werden können. Mir erscheint diese Hypothese immer noch am plausibelsten.

Als die Lehre von der Entwicklung des Malariaparasiten in der Anophelesmücke durch Grassi bis ins einzelne ausgebaut war, und er dazu gelangte, nunmehr in der Übertragung durch den Mückenstich die einzige Verbreitungsart der Malaria zu erblicken, da mufste er logischerweise weiter folgern, dafs »je heftiger in einem gegebenen Orte die Malaria herrscht, desto beträchtlicher die Zahl der daselbst vorkommenden Anopheles ist.«[1]) Und daraus würde sich dann ergeben, dafs die Malaria zu den Zeiten am heftstigsten auftreten mufs, zu welchen sich die meisten Anopheles finden lassen (falls die elementaren Vorbedingungen, vor allem ausreichende Luftwärme, gegeben sind). Wie steht es nun damit in Kamerun?

Dafs der erste Satz in seiner Allgemeinheit dort nicht zutrifft, ist schon aus dem zu ersehen, was ich über die Seltenheit der Anopheles überhaupt mitteilte. Wenn weiter etwa $^9/_{10}$ der sämtlichen gesammelten Mücken während dreier Monate gefangen wurden, und es in der Trockenzeit monatelang vollkommen unmöglich war, nur ein einziges Exemplar zu erhalten, so sollte man meinen, dafs sich dieser Gegensatz in der Malariamorbidität scharf ausprägen werde. Davon ist aber gar keine Rede, wie ein Vergleich der Kurve der Anopheleshäufigkeit mit einer entsprechenden der Malariazugänge zum Regierungshospital zeigt (s. nächste Seite, Fig. 1).

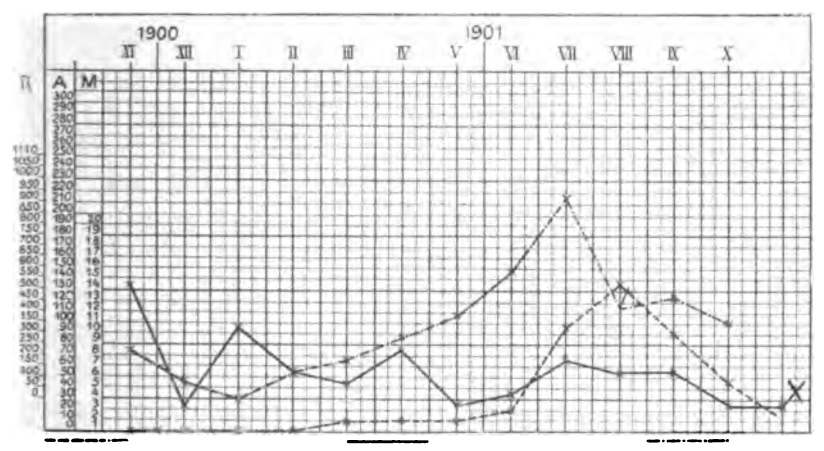
Der Vergleich beider Kurven mit einer Kurve der Niederschläge in den einzelnen Monaten desselben Zeitraums läfst erkennen, dafs die Gröfse der Niederschläge der Mückenhäufigkeit genau entspricht, beide auf die Malariahäufigkeit aber ganz ohne Einflufs sind. Die Temperaturverhältnisse (sofern es sich um Monatsmittel handelt) spielen in Kamerun keine Rolle, denn sie differieren das ganze Jahr hindurch nur um etwa 2,5° C (23,0—25,5).

Um die Fehlerquellen etwas auszugleichen, welche einmal in den kleinen Zahlen an sich liegen, anderseits damit gegeben

1) Die Malaria. Studien eines Zoologen. Jena, 1902. Verlag von G. Fischer.

sind, dafs ein Teil der beobachteten Fieber Rezidive waren, habe ich weiter die Verteilung der sämtlichen, innerhalb von rund 5 Jahren genau notierten 995 Malariarezidive auf die einzelnen Monate, und dann die Termine von 147 Erstlingsfiebern aus





Weibl. Anopheles in den kontrollierten Gebäuden; (der Teilstrich entspricht 10 Stück).

Malaria-Aufnahmen des Hospitals.

Regenhöhe in Millimetern.

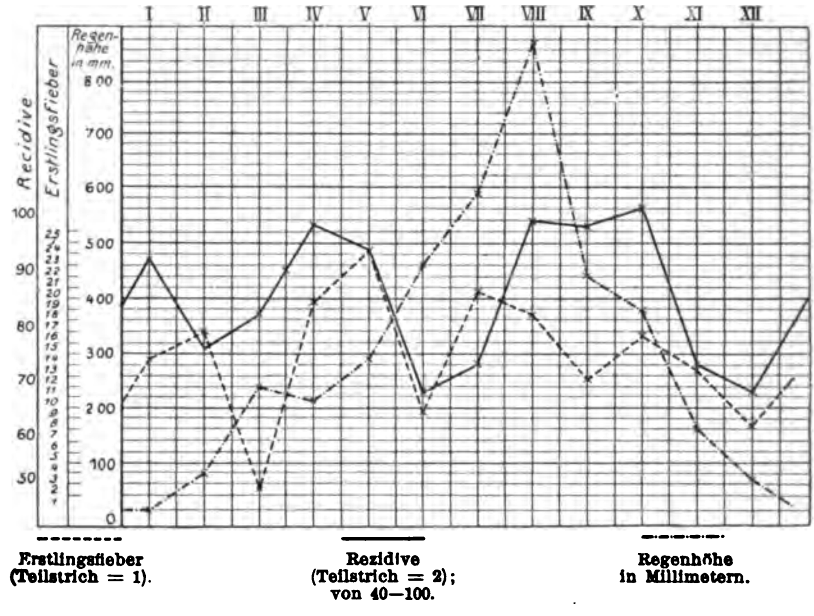
Fig. 1.

dieser Zeit für sich zusammengestellt.[1]) Daraus ergibt sich zunächst die überraschende Tatsache, dafs die Häufigkeit von

1) Als »Erstlingsfieber« wurden allein die ersten Malaria-Attaquen der Neuankömmlinge angesprochen; alle späteren Malariafieber als Rezidive, auch dann, wenn fieberfreie Intervalle von mehr als Jahresfrist zwischen den einzelnen Rückfällen lagen. Das geschah freilich selten; meistens wiederholten sich die Rückfälle bei den Nichtprophylaktikern etwa alle 4 Wochen oder selbst alle 2 Wochen mehr oder weniger regelmäfsig. Nicht mit in Betracht gezogen wurden die Erstlingsfieber, deren Termin sich infolge regelmäfsig seit Ankunft in Kamerun geübter Chininprophylaxe lange hinausgeschoben hatte, denn ihr schliefslicher Eintritt scheint sehr von Zufälligkeiten abhängig zu sein. Die Möglichkeit, die Erstlingsfieber in Kamerun absolut sicher zu bestimmen, gibt der Statistik einen höheren Wert als sie in Malarialändern, wie Italien, haben kann, wo es mehr oder weniger dem Ermessen des einzelnen Forschers anheimgegeben ist, was er als Erstlingsfieber ansprechen will, und was als Rezidiv.

Rezidiven und Erstlingsfiebern ungefähr parallel gehen, wie ein Vergleich der beiden Kurven zeigt.

Die dritte Linie gibt die durchschnittlichen Niederschlagsmengen für die einzelnen Monate während derselben 5 Jahre.



Erstlingsfieber (Teilstrich = 1). Rezidive (Teilstrich = 2); von 40—100. Regenhöhe in Millimetern.

Fig. 2.

Nach den genauen Beobachtungen der letzten $1^1/_2$ Jahre und nach dem Eindruck, welchen ich während meiner früheren Anwesenheit gewann, möchte ich mich für berechtigt halten, Niederschlagsmenge und Häufigkeit der Anopheles für Kamerun ganz allgemein in Parallele zu setzen, und so aus der Höhe des Regenfalls auf die Häufigkeit der Anopheles auch in früheren Jahren zurückzuschliefsen, in welchen noch nicht systematisch gesammelt wurde.[1]) Zufälligkeiten (z. B. die gleichzeitige Ankunft einer gröfseren Zahl von Europäern in demselben Monat) — dürften dadurch einigermafsen ausgeglichen werden, dafs die

1) Dieser Schlufs soll zunächst nur für Kamerun gelten; anderwärts, z. B. in Ambarava auf Java, läfst sich eine solche Parallele nicht beobachten. (Ter Burgh.)

Monatsmittel von 5 Jahren zusammengezogen wurden, und die Gesamtziffern der Erkrankungsfälle werden weniger klein erscheinen, wenn man berücksichtigt, dafs die Zahl der Europäer in meinem Wirkungsbereich nur 70—90, in der ganzen Kolonie etwa 300, später 500 betrug.

Dennoch möchte ich aus einer Statistik, wie die vorliegende, keine positven Schlufsfolgerungen ziehen; nur soviel scheint sie mir sehr bestimmt zu zeigen, dafs Beziehungen zwischen der Regenmenge — also sehr wahrscheinlich auch der Anopheleshäufigkeit — und der Häufigkeit von Malariaerkrankungen sich in Kamerun nicht auffinden lassen.

In diesem Sinne ist beachtenswert, dafs bei 18 Kolonisten Ankunft in Kamerun und Erstlingsfieber noch in dieselbe Trockenzeit (Dezember, Januar, Februar) fielen, also in die Jahreszeit, in welcher es gewöhnlich unmöglich war, einen Anopheles zu erlangen. Von einigen dieser Kranken finde ich notiert, dafs sie bestimmt versicherten, niemals eine Mücke bemerkt zu haben, dafs sie aber trotzdem »aus Vorsicht« ihr Mosquitonetz stets sorgfältig geschlossen hätten.

Ähnlich wie in Kamerun scheinen die Verhältnisse nach dem Bericht von A. Hislop in Tezpore, einer Landschaft in Assam am Fufs des Himalaya, zu liegen.

Die Trockenzeit tritt dort zugleich mit der kühlen im November ein, und damit verschwinden die Anopheles so vollständig, dafs es Hislop nach Ende November unmöglich war, auch nur ein Exemplar zu erhalten. Die Zahl der monatlichen Malariaerkrankungen schwankte dabei aber während des ganzen Jahres nur um 8,5 %, was Verfasser mit der Annahme einer besonders grofsen Zahl von Rezidiven in der mosquitofreien kühlen Trockenzeit erklären zu können glaubt, weil dann die Feldarbeit viel Veranlassung zu Erkältungen gibt. Die gleichmäfsige Verteilung der Kindermalaria über das Jahr dürfte damit aber kaum zu begründen sein. Hier betrug der Unterschied zwischen den günstigsten und ungünstigsten Monaten nur 4 %, und die letzteren waren der Dezember und der Januar — die Höhe der mosquitofreien Trockenzeit.

Interessant sind folgende Beobachtungen in Kamerun, deren Einzelheiten ich der Liebenswürdigkeit von Marinestabsarzt Dr. Brühl und Marinestabsarzt Dr. Zillmer verdanke:

Anfang November 1900, als die Trockenzeit bereits begonnen hatte, erlitt unser Kanonenboot »Habicht« Havarie und wurde halb an Land geslippt, um ausgebessert zu werden. Die Besatzung des »Habicht« befand sich damals seit 11 Monaten auf der westafrikanischen Station, war aber nur einen kleinen Teil dieser Zeit in Kamerun selbst anwesend und sonst mit ihrem Schiffe unterwegs gewesen. Bis zu dem Unglück waren 36 Malariafälle bei 23 Angehörigen seiner 111 Köpfe starken Bemannung vorgekommen. Jetzt ereigneten sich innerhalb von 4 Wochen 50 neue, davon 44 sichere Ersterkrankungen. Trotzdem gelang es den beiden in Kamerun stationierten Marineärzten samt den Sanitätsunteroffizieren nicht, überhaupt Anopheles zu finden. Weder an Bord, noch an Land in den Vorratsräumen und Schuppen, in den Ställen und Negerhütten, kurz überall dort, wo die Insekten nach allgemeiner Erfahrung sich sonst am liebsten verbergen, war ein Anopheles aufzutreiben. Ebensowenig habe ich selber damals mit meinen Mückensuchern, trotz der Prämie von 50 Pf. pro Stück, ein einziges Exemplar erhalten können.

Von der 87 Mann starken Besatzung des zweiten Kanonenbootes, »Wolf«, erkrankten vom November 1900 (Ankunftszeit) bis März 1901 28 Mann an Malaria; von diesen war eine Anzahl überhaupt niemals an Land gewesen; die übrigen (aufser den Offizieren) ausnahmslos nur innerhalb der Zeit von 1/4 Stunde nach Sonnenaufgang bis 1/4 Stunde vor Sonnenuntergang. Die darauf examinierten Erkrankten gaben teilweise sehr bestimmt an, dafs sie von Mücken nicht gestochen seien, verschiedene, dafs sie Mücken niemals gesehen hätten. Es war dieselbe Zeit, wo es, wie erwähnt, an Bord und an Land ganz allgemein unmöglich war, einen Anopheles aufzufinden.

Dr. Zillmer schrieb mir demnach, dafs eine Infektion durch Mosquitos nicht nachweisbar, sondern (für eine Anzahl von Fällen) mit ziemlicher Sicherheit auszuschliefsen gewesen ist.

Dafs Mücken an Bord der Kriegsschiffe auf dem Strom selbst während der Regenzeit niemals beobachtet wurden, deutete ich schon an.

Auch in andren Gegenden sind Beobachtungen gemacht worden, welche sich mit der Lehre von einer ausschliefslichen Malariaübertragung durch Mücken schwer vereinbaren lassen, wenigstens nach dem derzeitigen Stande unserer Kenntnis von diesen Verhältnissen. Es ist schon von Koch darauf hingewiesen worden, dafs in manchen Gegenden, wo alle Vorbedingungen für eine Verbreitung der Malaria gegeben sind, wie z. B. in Soekabomi auf Java, Malaria dennoch endemisch nicht vorkommt. Soekabomi, das ich aus eigener Anschauung kenne, besitzt tropisches Klima mit reichlichen Niederschlägen,

und in seinen ausgedehnten Lazarettanlagen wurden bis vor wenigen Jahren Malariakranke aus dem ganzen Indischen Archipel vereint, ohne dafs sich die Malaria unter der Bevölkerung verbreitete, obgleich mehrere Arten der Anophelesmücke in nicht geringer Menge vorhanden sind. Koch schliefst daraus, dafs noch andere Momente in Betracht kommen müssen (a. a. O.).

Aber selbst in Ländern Europas, welchen, wie England und Frankreich, ständig eine grofse Zahl chronisch Malariakranker zugeführt wird, sollte man gelegentliche Infektionen Einheimischer erwarten. Anopheles sind hier oft reichlicher vorhanden, als in manchen Tropengegenden, und die Temperaturverhältnisse würden nach den neueren Untersuchungen von Schoo[1]) an den meisten Plätzen für die exogene Entwicklung der Parasiten ausreichen.[2])

Celli hat in neuester Zeit wiederholt hervorgehoben, dafs die Häufigkeit der Malariafieber und der Anopheles keineswegs immer parallel gehen, wie Grassi annimmt, sondern dafs oft gerade das Gegenteil der Fall ist.[3])[4])[5])[6]).

Er teilt neben eigenen Beobachtungen die Berichte zahlreicher Autoren aus verschiedenen Gegenden Italiens mit, z. B. aus den sumpfigen Ebenen um Lucca und Pisa von den Ufern der Seen von Fucecchio und Bientina, sowie aus Massarossa, — wo alle Vorbedingungen für die Malaria gegeben, und namentlich die Anopheles äufserst zahlreich sind, und wo die Malaria, trotz ständigen Zuwanderns von Kranken aus der Nachbarschaft und von Einheimischen, die sich besonders in Sardinien als Arbeiter infiziert haben, — dennoch keinen

1) a. a. O.

2) Schoo selbst weist allerdings auf die Möglichkeit hin, dafs dieser Import an der Malariazunahme in Holland während der letzten Jahre beteiligt sein könnte. Aber warum ist er denn früher ohne Einflufs geblieben? Er dauert doch an, seit Holland seine Kolonien besitzt.

3) a. a. O., Atti etc.

4) »Die Malaria in Italien im Jahre 1901.« Dieses Archiv, Bd. XXV, Heft 3.

5) »Die Malaria nach den neuesten biologischen Forschungen.« Ebenda, 1902.

6) »Paludismo senza Malaria.« a. a. O., Atti.

Boden gewinnt. Vor Menschenaltern waren diese Gegenden z. T. berüchtigte Fieberherde.

Celli hat diese merkwürdige Erscheinung auch experimentell verfolgt. Er brachte Malariakranke mit Gametocyten im Blut durch Wochen mit Haufen von Kindern zusammen, welche »Wolken von Anopheles umschwärmten«; keines erkrankte, obgleich Chinin nicht verabreicht wurde. Celli weist umständlich nach, dafs weder eine Immunität des Menschen, noch spezifische Behandlung mit Chinin, noch Bodenkultur oder besondere meteorologische Verhältnisse an der Immunität jener Gegenden schuld sein können. Er fand aber, dafs die Anopheles der immunen Distrikte zwar ganz die gleichen waren wie in den Malariagegenden (Ficalbi), dafs sie aber auffallend wenig Neigung zum Stechen zeigten, und es gelang ihm nur ausnahmsweise, dieselben künstlich zu infizieren. (Von etwa 2000 Mücken stachen nur 70, und von diesen gelang die Infektion nur bei zweien.) Celli spricht deshalb mit aller Reserve die Vermutung aus, dafs es sich hier um eine »varieta di zanzare generalmente immuni« handeln könnte; eine Auffassung, die Grassi nicht gelten läfst, und welche unbeschadet der Autorität Cellis doch wohl noch weiterer Bestätigung bedarf, bevor sie akzeptiert werden kann.[1])

Ähnliche Verhältnisse wie Celli in Toskana fand Jacur in Padua und dessen Umgebung: Alle Vorbedingungen in Gestalt von Temperaturhöhe, Anophelesmengen und Abimpflingen gegeben, und seit Jahrhunderten nur ganz sporadisch Malaria. — Auch aus England, Frankreich und dem Veltellin wird mitgeteilt, dafs die Malaria aus bestimmten Landstrichen verschwunden sei, ohne dafs sich etwas dort geändert hätte, vor allem, ohne dafs eine Abnahme der Anopheles dafür hätte verantwortlich gemacht werden können. — (Nuttal, Sergent, Galli-Valerio).

Vielleicht liefse sich die bereits zitierte Schoosche Beobachtung hier mit heranziehen, um die Malariaimmunität zu erklären: Es könnten ja noch andere Stoffe, als Fruchtsäfte, die exogene Entwicklung des Malariaparasiten im Mückendarm verhindern. — (Celli hatte seine Anopheles mit Feigen und Melonen gefüttert, und zwar noch nach den Infektionsversuchen).

Natürlich sind das alles nur Hypothesen, aber doch nicht mehr, wie die Behauptung, dafs es allein **der Chiningebrauch** sei, welcher die Malaria aus den Gebieten verdrängt habe, aus

1) Atti, a. a. O.

welchen sie verschwunden ist. Auch Schüffner[1]), Celli[2]) und andere wenden sich gegen diese Annahme, und Schoo berichtet von Gegenden in Holland, wo sich die Malaria trotz ausgedehnter, zielbewufster, nachhaltiger Chininbehandlung der Kranken in den letzten Jahren verzwanzigfacht hat.[3])

Nicht unbeachtet dürfen die Einwände bleiben, welche Grawitz auf Grund der Sanitätsberichte für die preufsische Armee gegen die exklusive Mückentheorie erhob.[4]) Es ergibt sich daraus, dafs die Morbiditätskurve in den Jahren 1884—1888 beim 1. und 5. Armeekorps schon im März und April steil ansteigt, im Juni ihren Gipfel erreicht und bereits im Juli rasch sinkt. Ganz ebenso verhielt es sich bei der sächsischen, würtembergischen und bayerischen Armee 1874—1896 (Georg Mayer).[5]) Die Zugänge zu den Leipziger Hospitälern wegen Malaria begannen in der Zeit von 1832—1865 schon im Februar sich zu vermehren, hatten im Mai ihren Gipfel erreicht, nahmen im Juni etwas, im Juli sehr stark ab und verminderten sich weiter gegen den Herbst hin (Thomas).[6]) Dagegen verhielt sich die Malaria in Wilhelmshafen in der Zeit von 1860—1869 nach Wenzel[7]) mehr wie in Mittelitalien: Mäfsiger Anstieg der Morbidität vom Februar bis Mai, dann Abfall bis Mitte Juli und steiler erneuter Anstieg über das Vierfache bis Mitte September.

Ganz ähnlich war es in Dithmarschen 1842—1863 (Dose).[8])

---

1) »Die Beziehungen der Malariaparasiten zu Mensch und Mücke an der Ostküste Sumatras.« W. Schüffner, Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt.-Krankh., 1902, Bd. XLI.

2) a. a. O.

3) »La malaria in Ollanda.« Atti etc., 1902.

4) »Epidemiologischer Beitrag zur Frage der Malariainfektion.« Berliner klin. Wochenschr., 1900, Nr. 24.

5) »Über die Entstehung der Neuerkrankungen an Malaria während des Frühjahrs und Sommers unserer Breiten.« E. Martini, Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt.-Krankh., 1902, S. 147.

6) »Ergebnisse aus Wechselfieberbeobachtungen.« Archiv f. Heilkunde, 1866, Bd. VII, S. 234.

7) »Die Marschfieber.« Prager Vierteljahrsschrift für die prakt. Heilkunde, 1870, Bd. IV, S. 28.

8) Zit. nach Martini, a. a. O.

Heute entspricht das Verhalten der Malaria nach den Beobachtungen Martinis in den frisischen Flachländern dem im übrigen Norddeutschland.

Die ersten Infektionen erklärt Martini nach Koch damit, dafs die Mücken in den ersten warmen Tagen aus ihren Schlupfwinkeln hervorgelockt werden, dann bei erneutem Auftreten gröfserer Kälte, oder auch mit Einbrechen der Nacht in den menschlichen Wohnungen Zuflucht suchen, hier stechen, sich an alten Rezidiven infizieren und die Krankheit weiter verbreiten, da die Temperatur in den vielfach überheizten Wohnungen den Gameten gestattet, sich weiter zu entwickeln. Die Möglichkeit eines solchen Vorganges soll nicht bestritten werden. Dafs derselbe praktisch eine wesentliche Rolle spielt, erscheint mir aber zweifelhaft; zunächst, weil die Bauern zu Zeiten, wo sie ihre Stuben noch überheizen, Türen und Fenster nicht zu öffnen pflegen, schon mit Rücksicht auf die Kosten der Feuerung; jedenfalls werden sie das kaum des Abends tun, wenn die Mücken schwärmen. Da es hier im Norden 2—3 Wochen dauert, bis die infizierte Mücke ihrerseits infektionsfähig wird, und weiter etwa 12—14 Tage, bevor der Neuinfizierte erkrankt, so müfsten die Mücken, welche die Märzfieber hervorrufen, sich schon im Februar infiziert haben, während sie doch tatsächlich kaum vor Mai zu stechen anfangen. Selbst in Süditalien kommen die ersten Neuinfektionen kaum vor Juni vor (Martirano u. a.), und nur ganz ausnahmsweise im Mai. Schoo[1]) fand infizierte Anopheles in den Hütten während des ersten Frühjahrs ebensowenig wie Martini selbst, und in Italien fehlen sie zu dieser Zeit durchgehend ebenfalls.[1]) Gar nicht einzusehen ist vollends, weshalb die Malaria vom Juni an in Nordeuropa bereits wieder abnimmt, während dann die eigentliche Mückenplage gerade beginnt, die Malariakranken am häufigsten, und damit die Infektionsgelegenheit für die Mücken am reichlichsten ist.

---

1) In seinem diesjährigen Bericht teilt Schoo einige Umstände mit, welche die Kochschen Annahmen als irrig erweisen. Nach Schoo reichen die Temperaturen in den holländischen Bauernhäusern im Winter und Frühjahr niemals aus, um die Entwicklung der Amphionten im Mückendarm zu ermöglichen, und zwar vor allem wegen der starken Abkühlung nachts. Die Minimaltemperatur (16° C.) wurde vor dem 15. April niemals erreicht, und auch nachher bis zum Juni nur vorübergehend für kurze Zeit.

Die Verhältnisse in Friesland dürften, namentlich in bezug auf die Zustände in den Bauernhäusern, wohl sehr ähnlich liegen wie in Holland.

Infizierte Anopheles hat Schoo auch 1902 im Winter und im Frühjahr niemals in den Häusern gefunden, und er hat experimentell nachweisen können, dafs die vom Herbst stammende Infektion der Mücken im Laufe des Winters erlischt.

Sehr interessant ist, dafs Schoo eine ganze Anzahl sicherer Erstlingsfieber im strengsten Winter (Dezember, Januar, Februar) beobachtete. (Ich erhielt den Bericht Schoos erst nachdem diese Arbeit abgeschlossen war.)

Auch in eiuigen Gegenden Italiens begegnen wir mehrfachen Widersprüchen.

Nach den übereinstimmenden Untersuchungen von Celli, Dionisi, Bignami, Bastianelli, Gosio, Bettinetti, Fezzi, Grassi u. a. finden sich dort während des ersten Frühjahrs und ganz besonders im Mai und im Juni — entsprechend der grofsen Seltenheit der Ästivoautumnalfieberrezidive zu dieser Zeit — nur ganz ausnahmsweise die Gametocyten des kleinen Parasitentypus, die Halbmonde, im Blute von Malariakranken. In einigen Gegenden wurden sie im Juni, gerade vier Wochen vor Beginn der Sommerepidemie, überhaupt ständig vermifst, und es ist daher nicht ganz leicht, das plötzliche rapide Ansteigen der Malariafrequenz, welches konstant um Mitte Juli erfolgt und von den italienischen Forschern wiederholt mit dem Ausbruch einer Feuersbrunst verglichen wird, auf diese sporadischen Rezidive und vereinzelten Gametocyten zurückzuführen.[1]) Ebenso schwer verständlich ist es, weshalb nicht schon im Mai und Juni gehäuftere Neuerkrankungen vorkommen, wo doch Übertragungsmaterial — wenigstens an Gametocyten des grofsen Parasitentypus — reichlicher vorhanden ist als später[2]), das Stechen der Anopheles bereits eine Plage bildet und die Temperaturhöhe zweifellos ebenfalls ausreicht. (Beobachtungen von Dionisi in Makarese.) — Und woher die rapide Abnahme der Sommerfieberhäufigkeit vom August zum September, während man zu dieser Zeit die höchste Morbidität erwarten müfste? Dagegen betrug sie: Juni 0,2 %; Juli 0,8 %; August **17,8 %**; **September 4,4 %** der exponierten Bewohner etc. Dafs diese Beobachtungen nicht nur lokale Bedeutung haben, zeigt ihr völliges Übereinstimmen mit den Zusammenstellungen aus den

1) Die Erklärung Dionisis und Grassis, dafs ein aus den römischen Laboratorien in das Malariagebiet von Makarese zu Versuchszwecken eingeführter infizierter Anopheles die ganze Sommerepidemie des Jahres 1901 dort verschuldet habe(!!!), dürfte die Wenigsten befriedigen.

2) Der unmotivierte steile Abfall der Frühjahrsfieberhäufigkeit vom März ab, findet sich in Makarese (bei Rom) durch folgende Zahlen ausgedrückt: März 12,5, April 7, Mai 4,6, Juni 1,4 % etc. der ortsanwesenden Bewohner. (Dionisi.)

grofsen römischen Hospitälern. (Marchiafava, Celli, Dionisi etc.)[1])

Fast noch schärfer als in Latium tritt der unmotiviert vorzeitige Rückgang der Epidemien im Süden Italiens hervor. Tanzarella bringt aus Brindisi folgende Zahlen für 1901: Mai 5 (Rezidive); Juni 0; Juli 74; August 171; September 12; Oktober 10 Malariaerkrankungen.

Der Juli brachte die ersten Neuerkrankungen.

In Trinitapolis (Capitanata) wurden von Labranca beobachtet: 1. bis 20. Juni 6; 20. Juni bis 20. Juli **38**; 20. Juli bis 20. August 4 Fieber; dann noch 7 im September; später keine Neuinfektionen mehr, trotz durchschnittlich 20° C. — Die Anopheles waren im Juli und August zahlreich und nahmen erst im September ab. Weshalb der Rückgang der Neuinfektionen schon Ende August?

Der Gang der Malariaepidemie in Norditalien zeichnet sich durch das späte Auftreten der ersten Neuinfektionen aus und die häufige Dauer derselben bis in den Winter hinein; er steht also in einem direkten Gegensatz zu dem der norddeutschen Marschfieber, welche im März beginnen und schon vom Juni ab wieder an Zahl abnehmen. — So kamen nach Orta z. B. 1901 die ersten Neuerkrankungen zu Ferrara im Juli vor; die Maximalzahlen wurden im September und Oktober erreicht, und noch für den Dezember sind 14, wenn auch leichte Ersterkrankungen notiert. Auch in Mantua beobachtete Silviani während der Epidemie von 1901 die ersten sicheren Erstlingsfieber im Juni; im Oktober war ihre Anzahl am gröfsten, der November stand an zweiter Stelle und im Dezember waren die Erstlingsfieber immer noch zahlreicher als im August! Dabei erklärt Silviani, dafs er nach Mitte September keinen Anopheles mehr gefunden habe.

---

1) Ein so objektiver Urteiler wie Dionisi konnte sich der Erkenntnis dieser Erklärungsschwierigkeiten nicht verschliefsen, und er bezeichnet deshalb den Ursprung der Sommerfieber als unaufgeklärt. Auch Celli hebt die verschiedenen Widersprüche in den Ergebnissen der seitherigen Malariaforschung wiederholt hervor.

Ähnliche Beobachtungen sind auch sonst gemacht worden; doch kann es sich für mich hier naturgemäfs nur darum handeln, Beispiele aus der fremden Literatur zu bringen; wenn ich dabei ausführlicher geworden bin, als dem Orientierten notwendig erscheinen wird, so mag mich die immer wieder gemachte Erfahrung entschuldigen, dafs die fremdländische — besonders die italienische und holländische Literatur — nicht allen Interessenten zugänglich ist.

Wer sich spezieller für den Gegenstand interessiert, der möge vor allem die »Atti della Società per gli Studi della Malaria«[1]) gründlich studieren. Nur auf die Epidemie von Cetraro in Apulien möchte ich näher eingehen; es liegen darüber von zwei Seiten Berichte vor.

G. Montoro de Francesco führt zunächst eine Anzahl von Einzelfällen an, in welchen Mückeninfektion nach seiner Ansicht auszuschliefsen war; macht Gegenden in Süditalien namhaft, wo trotz schwerer Malaria, selbst von einem überzeugten Anhänger der exklusiven Mückentheorie, wie Martirano, keine Anopheles gefunden werden konnten, und bespricht einige Fälle von komplettem Netzschutz ohne jede Wirkung auf die Erkrankungsfrequenz der Bewohner. Dann teilt er ungefähr folgendes mit[2]): Cetraro ist eine Stadt von 3050 Einwohnern, auf einem Hügel an der Westküste Apuliens gelegen, welcher 76 m über die durch das Flüfschen Aron gut bewässerte und bebaute Ebene emporragt. Die Stadt hat breite Strafsen und bestes Trinkwasser. In der Nähe liegen die Gemeinden San Angelo und Difesa mit etwa 1200 Einwohnern; 3810 leben zerstreut auf dem Lande. In früheren Jahren kamen nur einzelne Malariafälle bei solchen vor, welche die bewässerte Ebene bebauten. In der Stadt selbst sieht man höchstens einzelne Fieberrekonvaleszenten, welche des Luftwechsels wegen dorthin gehen. Von den letzten Junitagen bis Ende Juli 1901 erkrankten 1000 Einwohner dieses Gebietes an Malaria; in der zweiten Hälfte des August kamen über 2000 Kranke auf die 3000 Einwohner von Cetraro selbst; zugleich nahm die Krankheit die schwersten Formen an, und der grofse Parasitentypus wurde rasch, »fast plötzlich«, durch den kleinen, die Ästivautumnalform, ersetzt. Am 15. September betrug die Gesamtzahl der Kranken über 3000, die schweren Fälle häuften sich, und bis zum 30. Oktober waren 64 Todesfälle an Perniciosa zu verzeichnen; im November folgten 17 weitere. Schon Ende Oktober, mit Eintritt der ersten Fröste, wurden die ersten Schwarzwasserfälle beobachtet. Neuinfektionen blieben erst in der zweiten Hälfte des Dezembers aus.

1) Roma, 1902.

2) La Semaine médicale, 1902, Nr. 20.

Nur auf dem Bahnhof und in der Ebene liefsen sich einige Anopheles auftreiben; in Cetraro selbst, in Difesa und San Angelo fand sich nicht ein einziger. Auch Martirano mit den Sanitätsbeamten fand auf der Höhe der Epidemie in der ganzen Gegend während mehrerer Tage eifrigen Suchens nur 21, und diese erwiesen sich sämtlich als nicht infiziert. Auch andere Culiciden waren enorm selten.

Die Darstellung von Martirano selbst bestätigt die Ausdehnung der Epidemie und das Fehlen infizierter Anopheles; nur darin steht sie mit der Francescos im Widerspruch, dafs M. angibt, auch in früheren Jahren seien regelmäfsig Epidemien, wenngleich von viel geringerer Ausdehnung vorgekommen. Dadurch hält er sich für berechtigt, in der überwiegenden Mehrzahl der Malariafälle vom Sommer 1901 lediglich Rezidive zu erblicken und will nur 18 % der Malariafälle als Neuerkrankungen gelten lassen, während Francesco aus seinen Beobachtungen folgert, dafs die Anopheles die alleinigen Überträger der Malaria nicht sein können. Dasselbe folgert Semeleder aus dem Fehlen von Mosquitos in der ihrer Malaria wegen berüchtigten tierra blanca in Indien.[1])

Überblicken wir die verschiedenen Formen der jährlichen Malariamorbiditätskurven in verschiedenen Gegenden an der Hand der vorgeführten Beispiele, so ergibt sich folgendes:

In Mittelitalien, wo die Malaria durch ausgezeichnete Forscher seit lange am gründlichsten studiert ist, haben wir einen mäfsigen Anstieg im ersten Frühjahr mit Gipfel etwa im März und tiefsten Stand im Juni. Bei den Kranken findet sich um diese Zeit fast ausschliefslich der grofse Parasitentypus als charakteristischer Erreger der »Frühlingsfieber«. Infizierte Anopheles existieren kaum.

Um die Mitte des Juli steigt die Kurve zum zweiten Mal: steiler und höher als im Frühjahr, und erreicht ihren Gipfel im August; im September beginnt sie erst langsam, vom Ende dieses Monats ab rasch zu sinken. — Zu Beginn dieser »Epidemie« sind die grofsen Parasiten der »leichten Tertiana« noch vielfach vorhanden, doch machen sie bald den kleineren Formen Platz, und diese herrschen vom August ab vollkommen vor. Anopheles sind im Juli und August sehr häufig, auch zahlreich infiziert. Vom September ab verringert sich ihre Gesamtzahl; die Zahl der infizierten nimmt prozentuarisch zu.

Im Süden Italiens beginnt der steile Anstieg der Sommerfieberfrequenz vielfach später im Jahr als in Mittelitalien, und

1) Indian Medic. Record, 1901.

Neuerkrankungen erfolgen manchmal bis in den Spätherbst, ja, bis in den Winter hinein. Die kleinen Parasiten überwiegen von Beginn an; der grofse Typus ist mehrfach eine Herbsterscheinung. Die Anopheles sind nicht selten schon verschwunden, während die Epidemie — auch die Neuerkrankungen — fortdauern, oder sie sind selbst auf der Höhe der Epidemie enorm selten. Solange sie vorhanden sind, ist die Zahl der infizierten meist reichlich, doch finden letztere sich kaum vor Juni und Juli.

An andern Orten steigt die Fieberfrequenz mit der Temperatur schon vom Mai ab; die begrenzte Frühjahrsepidemie Mittelitaliens scheint aber überall zu fehlen.

Auch in Norditalien werden die Frühjahrsfieber vielfach vermifst, und die Erkrankungen dauern zuweilen bis tief in den Spätherbst hinein. Die grofsen Tertianaparasiten überwiegen namentlich anfangs, und auch später, beim Auftreten der kleinen Parasiten, verlaufen die Erkrankungen relativ leicht. In Norditalien gibt es Gegenden, wo alle Vorbedingungen für die Malariaverbreitung scheinbar vorhanden, und besonders die Anopheles zahlreich sind, die Malaria aber trotzdem kaum vorkommt.

In Nordeuropa wird — oder wurde — das Bild ganz von der Frühjahrsmalaria beherrscht, welche schon im März ihren Anfang nimmt, im Juni, oder selbst im Mai den Gipfel der Frequenz erreicht hat und dann rasch verschwindet.

Es fanden sich ausschliefslich die grofsen Parasiten der »leichten Tertiana.« Infizierte Anopheles sind im ersten Frühjahr bisher noch nicht nachgewiesen worden. Zu Zeiten schwerer Epidemien, wie sie früher besonders an den Meeresküsten auftraten, entsprach ihr Gang zuweilen dem in Mittelitalien gewöhnlichen begrenzten Frühjahrs- und Sommeranstieg; Dauer der Erkrankungen bis in den Spätherbst hinein.

In Nordholland folgt die Fieberhäufigkeit vom ersten Frühjahr bis zum Herbst im ganzen der Temperatur; eine Abnahme im Mai und Juni trat nicht hervor; die Anopheles sind vom Frühjahr bis zum Herbst häufig.

In den Tropen verteilen sich die Malariafieber ziemlich gleichmäfsig über das ganze Jahr, sofern nicht besondere meteorologische Verhältnisse oder äufsere Umstände, die als Gelegenheitsursachen wirken, Ausnahmen veranlassen. Die Menge der Anopheles im allgemeinen und der infizierten Anopheles im besondern steht an manchen Orten ganz aufser Verhältnis zur Zahl der Erkrankungen, und ihre Verteilung über das Jahr übt nicht überall einen deutlichen Einflufs auf die Schwankungen der Malariahäufigkeit aus.

Die Quartanafieber spielen in der Epidemiologie keine Rolle; sie sind als Ausdruck abgeschwächter Infektion anzusehen und sind in der nachepidemischen Periode und zu Zeiten der Rezidive am häufigsten, ohne doch sonst ganz zu fehlen. Gegen den Polarkreis wie gegen den Äquator hin werden sie immer seltener.

Über die Temperatur in ihren Beziehungen zur Malaria läfst sich auf Grund der neuesten Untersuchungen Schoos, sowie von Beobachtungen in Norditalien ganz allgemein sagen, dafs sie während des gröfsten Teils des Jahres — mindestens für die Entwicklung der Gameten des grofsen Parasitentypus im Anopheles — in ganz Italien ausreichen würde. Eine Gesetzmäfsigkeit dieser Beziehungen läfst sich aber durchaus nicht überall feststellen. In Norddeutschland ist es vielfach noch weniger leicht, Malaria und Temperaturschwankungen in konstante Verbindung zu bringen. Nur scheint es, dafs die Schwere der klinischen Erscheinungsformen im grofsen und ganzen mit der Annäherung an die Wendekreise, resp. den Äquator zunimmt, selbst wenn der Parasitentypus sich morphologisch nicht mehr wesentlich verändert.

Aus den seitherigen Beobachtungen geht also hervor, dafs weder in Nordeuropa, noch in Südeuropa, noch in den Tropen, die örtlichen und zeitlichen Schwankungen der Malariahäufigkeit von dem Verhalten der Anophelesmücken überall unmittelbar abhängen; und weiter, dafs auch die Lufttemperaturen, sei es indirekt durch Einwirkung auf die Anophelesmücken, sei es direkt,

einen mafsgebenden Einflufs auf den Gang der Epidemien nicht ausüben.

Ein Moment, welches die direkte Übertragung der Malaria durch die Mücken beweist, ist die günstige Wirkung des Netzschutzes der Wohnungen auf die Gesundheit der Insassen. Die Beobachtungen aus Italien, Algier, Japan, Holland etc. stimmen hier zu sehr überein, als dafs ihr Wert durch die eine entgegenstehende Angabe Francescos wesentlich verringert werden könnte. Immerhin ist durch die niedrigere Zahl der Malariaerkrankungen bei den Geschützten nur ein Beweis für die Beteiligung der Insekten an der Malariaverbreitung **überhaupt** — nicht aber dafür gegeben, dafs direkte Übertragung durch ihren Stich die **einzige** Verbreitungsweise darstellt. Denn studiert man die einzelnen, sehr exakten Angaben der Italiener genau, so findet man, dafs der Netzschutz doch in keinem Falle ausgereicht hat, um alle Neuinfektionen sicher zu verhüten. In einigen Fällen war ihre Zahl in den geschützten Gebäuden verhältnismäfsig gar nicht unbedeutend. Das wird mit dem Widerstand der Insassen erklärt, welche die ärztlichen Vorschriften nicht befolgten. Sicher mag es meistens so zusammenhängen; aber wenn mit den Drahtnetzen, aus welchen Gründen immer, — ein absolut sicherer Schutz nicht erzielt worden ist, so kann ihre relative Wirksamkeit nicht als Beweis für die exlusive Insektenübertragung gelten.

Man wird hier auf das Experiment von Sambon und Low hinweisen, welche mit ihrem Diener auf der Höhe einer Malariaepidemie auf der römischen Campagna in ihrem mückensicheren Hause 6 Wochen lang wohnten und verschont blieben, während die Bewohner nicht geschützter Häuser in der Umgebung erkrankten.

Derartige negative Ergebnisse an drei Menschen sind interessant, aber doch nicht unbedingt beweisend. Selbst in Kamerun, wo die weitaus meisten Neuankömmlinge noch viel schneller erkranken, als in den schlimmsten Fiebergegenden Italiens, bleiben immer einzelne Individuen ausnahmsweise selbst 6—12 Monate und länger ohne alle Vorsichtsmafsregeln gesund, und erst die Schwere der dann auftretenden Fieber zeigt, dafs es sich keineswegs um eine individuelle Immunität, sondern nur um ein zufälliges Ausbleiben der Infektion gehandelt hat.

Sehr bemerkenswert ist die aus den Beobachtungen der italienischen Forscher übereinstimmend sich ergebende Tatsache,

dafs der Netzschutz einen bedeutsamen Einflufs auf die Häufigkeit der Rezidive ausübt. Auf den ersten Blick erscheint das insofern natürlich, als Erstinfektionen ja Vorbedingungen für die Rezidive sind, die Gesamtzahl der letzteren also mit den ersteren abnehmen wird. Das kommt aber hier nicht in Betracht, denn es wurden Personen verglichen, welche sämtlich von den früheren Jahren her schon infiziert waren. Da ergab sich, dafs von den Geschützten 25,06% an Rezidiven erkrankten, von den Nichtgeschützten 62,9% (Ricchi). Celli schliefst daraus, dafs »Pseudorezidive« bei den Wiedererkrankungen eine grofse Rolle spielen, und meint damit, dafs die alte Malaria hier vollkommen ausgeheilt war, und nun frische Infektion erfolgte. Ich glaube nicht, dafs »Ausheilung« nötig ist, bevor Neuinfektion möglich wird, sondern möchte den Vorgang als »Reinfektion« auffassen; als »Auffrischung« der chronischen oder latenten Infektion durch eine stark virulente neue. Viele Beobachtungen, wo eine leichte, aber sicher vorhandene Malaria plötzlich — oft unter dem Einflufs nachweisbarer Infektionsgelegenheiten — einen andern, schweren und akuten Charakter annimmt, weisen darauf hin.

Dafs solche »Reininfektionen« wesentlichen Einflufs auf den Verlauf der Gesamtepidemie haben, mufs auch aus der Übereinstimmung der Erstlingsfieberkurve mit der Kurve der Rezidive geschlossen werden, welche in Kamerun, in Italien und in Holland gleichmäfsig hervortritt. Es müssen also gemeinsame Ursachen auf beide einwirken. Wenn man vom Standpunkte der exklusiven Mückentheorie aus diese gemeinsamen Ursachen allerdings in wiederholten Stichen infizierter Anopheles allein suchen wollte, so wären die fortgesetzten Reihen schwerer Rezidive an einem Platz wie Kamerun noch weniger zu begreifen, und die »Rezidivepidemien«, welche die Italiener da annehmen, wo das Mifsverhältnis zwischen Malaria- und Anopheleshäufigkeit selbst ihnen zu grofs erscheint, wie z. B. in Cetraro, würden ganz unerklärlich.[1])

1) Auch die Regelmäfsigkeit der Fieberwiederkehr, etwa alle 2—4 Wochen, spricht gegen deren ausschliefsliche Abhängigkeit von Reinfektionen.

Und nun die sporadischen Fälle!

Celli will ihr Vorkommen in verschiedenen Gegenden Toskanas mit dem Hinweis auf »andere typisch kontagiöse Infektionskrankheiten, wie Bubonenpest und Lepra« erklären, »welche sich auf spärliche und isolierte Fälle ohne Fähigkeit der Weiterverbreitung beschränken, wenn sie sich abschwächten.« Es liegt auf der Hand, dafs dieser Vergleich nach mehr als einer Richtung hinkt. Ich gehe darauf nicht näher ein. Aber es handelt sich hier überhaupt weniger darum, zu erklären, weshalb die isolierten Malariafälle nicht zum Ausgangspunkt von Epidemien werden, als um die oft absolute Unmöglichkeit, ihre Herkunft festzustellen. Wenigstens gilt das für Norddeutschland. So beobachtete Reckzeh am 2. April 1901 in Berlin selbst die Ersterkrankung eines Knaben. Die Diagnose wurde durch Blutbefund und prompte Chininwirkung gesichert. Am 4. Juni erkrankte das Dienstmädchen; am 1. Juli der Bruder des ersten Knaben. Alle drei hatten Berlin seit Monaten nicht verlassen; es handelte sich um die grofsen Tertianaparasiten.[1]) Wie will man sich hier die Erkrankung vom 2. April auf der Basis der exklusiven Mückentheorie erklären? Mitte März, wo die Infektion hätte erfolgt sein müssen, gibt es doch ganz gewifs keine stechenden Mücken in Berlin; und wenn doch — woher hätten sie das Übertragungsmaterial nehmen sollen?

Wollen wir an der Lehre von der exklusiven Mückenübertragung aber zunächst doch noch festhalten, so sind meines Erachtens unbedingt zwei Voraussetzungen nötig, um die epidemiologischen Tatsachen zu erklären: Erstens müssen wir die Unität des Malariaparasiten anerkennen, an welcher sein Entdecker, der geniale Laveran von Anfang an festgehalten hat; und zweitens müssen wir uns an den Gedanken gewöhnen, dafs die Malariainfektion viele Monate, vielleicht Jahre ebenso vor dem ersten Fieber latent bleiben kann, wie sie es so häufig später zwischen den einzelnen Rezidiven ist.

---

1) »Über einheimische Malaria und Malariakachexie.« D. Reckzeh, Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 18

Über die Gründe, welche mir — von der Epidemiologie ganz abgesehen — für die Unität des Malariaparasiten zu sprechen scheinen, habe ich mich im vorigen Jahre an anderer Stelle ausführlich verbreitet[1]; van Gorkom hat inzwischen noch reichhaltigeres Material in diesem Sinne mit großser Sorgfalt zusammengetragen.[2] Ich kann darauf hier nicht näher eingehen. Das morphologische Verhalten der verschiedenen Typen ist mit der Annahme jedenfalls sehr gut vereinbar, daſs es sich um einen einheitlichen Parasiten handelt, der in erster Linie unter dem Einfluſs der klimatischen, besonders der Temperaturverhältnisse, in zweiter, nach Maſsgabe der Widerstandsfähigkeit seines menschlichen Wirtes und seiner eigenen Virulenz — verschiedene Formen zeigt, je nachdem er schneller oder langsamer den rein vegetativen Teil seines Entwicklungsganges durchmacht und danach früher oder später die Teilung vorbereitet und vollendet. Es wäre auch denkbar, daſs bereits während der sexuellen Entwicklung und Vermehrung des Parasiten in der Mücke für seine spätere Form entscheidende Einflüsse wirksam sind.

Nach Anerkenntnis der Einheitlichkeit des Malariaparasiten ist es z. B. nicht mehr schwierig, den Ursprung der Sommerepidemien in Latium zu erklären: Die junge Mückenbrut desselben Jahres infiziert sich an den Frühjahrsfieberkranken, und die Parasitenkeime entwickeln sich unter dem Einfluſs des Sommerklimas zu den Formen, welche uns bei den Sommerfiebern entgegentreten. Schwächt sich ihre Virulenz nach einigen Herbst- und Winterrezidiven gegen das Frühjahr hin dann ab, so wachsen sie entweder in demselben Wirt, oder nach erneuter Mückenpassage während der kühlen Frühlingsmonate im neuinfizierten Menschen wieder zu den groſsen Tertianaparasiten aus etc.

Für eine solche Umwandlung des Parasitentypus mit dem Klimawechsel sprechen auch meine Kameruner Beobachtungen: Zweifellose »groſse Tertianaparasiten« habe ich bei vielen Tausenden von Bluntuntersuchungen dort nur fünfmal angetroffen.

1) »Die Malaria der afrikanischen Negerbevölkerung, besonders mit Bezug auf die Immunitätsfrage.« Jena, 1902, bei G. Fischer.

2) »De uniteit van den malariaparasiet.« Door W. J. van Gorkom. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indie. Deel XLII, afl. 6.

Das war einmal nach längerem Aufenthalt in dem kühlen (malariafreien) Gebirge; einmal bald nach der Rückkehr vom Urlaub in Europa; dreimal bei Schwarzwasserkandidaten, welche aus Scheu vor dieser Komplikation trotz ihrer Malaria einige Zeit gar nicht oder ganz ungenügend Chinin genommen hatten, und bei welchen man nach Lage der Dinge berechtigt war, einen in seiner Virulenz stark abgeschwächten Parasitenstamm anzunehmen.[1])

Wenn also grofse Tertianaparasiten bei den Rezidiven in der gemäfsigten Zone sich gar nicht selten bei Kamerunern vorfinden, so kann das ungezwungen nur mit einer Umwandlung der Form und nicht mit einer »Doppelinfektion« in Kamerun erklärt werden, wo nachher im Norden die eine Parasitenspezies die andere »überwuchert« und verdrängt hat. Es sei denn, dafs man glauben will, der grofse Tertianaparasit existiere in Kamerun überhaupt fast nur in latentem Zustande.

Bezüglich des zweiten Punktes — lange Dauer der ersten Latenzperiode — wird sich vielleicht verstärkter Widerspruch erheben, seit Schaudinn die Aufnahme der Sporozoiten durch die roten Blutkörperchen direkt unter dem Mikroskop beobachtet hat, und selbst ihre Umwandlung in die jungen »Ringformen« verfolgt zu haben meint.[2]) Bei aller aufrichtigen Bewunderung für die ausgezeichneten Arbeiten Schaudinns vermag ich bis jetzt doch noch nicht die Überzeugung zu gewinnen, dafs das Problem der Inkubationsperiode durch diese eine Beobachtung gelöst sei.

Natürlich werden die Sporozoiten in die roten Blutkörperchen eindringen; ob sie sich dort aber stets unvermittelt innerhalb weniger Stunden direkt in Amöben verwandeln, das ist doch wohl die Frage. Wäre dem so, dann müfste eine sichere Vernichtung der Eindringlinge während der Inkubationsperiode durch Chinin möglich sein, denn die jungen Amöben sind seiner Wirkung ja zugänglich, und ich sehe keinen Grund, weshalb sich die Einwanderung der Sporozoiten in die roten Blutkörperchen

1) Diese Annahme steht mit der Tatsache in keinem Widerspruch, dafs die drei Patienten nachher wirklich auf Chinin Schwarzwasser bekamen, denn die Entwicklung der Schwarzwasserdisposition ist nicht direkt abhängig von der Virulenz der aktiven Plasmodien, sondern von den Latenzformen.

2) »Studien über krankheitserregende Protozoen.« Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte, Bd. XIX, Heft 2, 1902.

und ihre Umwandlung zu jungen Plasmodien, welche sich unter dem Mikroskop in einer Anzahl von Stunden vollzieht, im menschlichen Körper Wochen und Monate verzögern, dann aber plötzlich so allgemein stattfinden sollte, dafs man die 2—3 Tage vor dem ersten Fieberanfall noch vollkommen fehlenden jüngsten Bläschenformen während desselben auf einmal in grofser Menge antrifft. Ich habe das bei meinen Studien über die malarische Anämie mehrfach genau verfolgen können. Auch Grassi ist zu der Annahme geneigt, dafs der Malariaparasit während der ersten Latenzperiode noch in eine andere, bis jetzt nicht sicher nachgewiesene Form übergeht und sich aus dieser später zum Plasmodium umformt. Zoologisch ist das also nicht unmöglich, und gut beobachtete lange »Inkubationsperioden« zwingen uns diesen Gedanken geradezu auf.

Ich selber hatte mein erstes Malariafieber 1887, 6 Wochen nach der letzten Infektionsmöglichkeit auf Java, 14 Tage nachdem ich mit der bis dahin regelmäfsig geübten Chininprophylaxe aufgehört hatte. Wahrscheinlich war jedoch die Infektion bereits 4 Wochen früher in Tjelatjap erfolgt.

Mein Reisegefährte bei der Rückkehr aus Kamerun im Herbst 1901, Marineoffizier L., blieb während seiner etwa zehnmonatlichen Tätigkeit dort, wo er die besonders stark exponierenden Küstenvermessungen zu leiten hatte, bei gewissenhafter Chininprophylaxe vollkommen gesund; bald nach seiner Rückkehr nach Deutschland setzte er die Prophylaxe aus und erkrankte kurz darauf an schwerster Malaria. Die letzte Infektionsgelegenheit lag etwa 6 Wochen zurück; aber es wäre doch gezwungen, hier vorauszusetzen, dafs die Infektion 10 Monate lang ausgeblieben sei, um dann in den letzten Tagen vor der Abreise einzutreten; wahrscheinlich war die Inkubationsperiode hier also eine viel längere. Dasselbe gilt von einem andern Marineoffizier, welcher einige Jahre früher ebenfalls beim Vermessungskommando in Kamerun tätig war. Er blieb draufsen während seiner einjährigen Tätigkeit ohne Chiningebrauch vollkommen gesund, erkrankte dann bald nach seiner Rückkehr in Deutschland an Malaria und starb im ersten Fieber.

Ein Herr L., Photograph, welcher 1899 mit mir zusammen heimreiste, hatte sich 2 Jahre lang in Südwestafrika, z. T. in Fiebergegenden aufgehalten ohne zu erkranken; er blieb dann etwa 3 Monate lang in Deutschland ebenfalls gesund und reiste im Oktober 1898 nach Liberia. Hier bekam er auf freier Reede angesichts der Küste ein schweres Malariafieber, das nachher noch oft rezidivierte. Der Dampfer hatte vorher nur auf den freien Reeden von Dakar und Conakry weit von der Küste vor Anker gelegen und L. hatte das Schiff nicht verlassen. Aus Südwestafrika war L. etwa 5 Monate vor seiner Erkrankung abgereist; aus den Fiebergegenden dort

jedoch schon 2 Monate früher. Chinin hatte er vor dem Fieber nicht genommen.

Ich lasse es bei diesen Beispielen bewenden, welche jedenfalls die Möglichkeit längerer Inkubationszeiten, oder besser gesagt, primärer Latenzperioden, beweisen, als man sie sonst anzunehmen geneigt ist. In der älteren Literatur wird über zahlreiche ähnliche Fälle berichtet.[1])

Einen Anhaltspunkt dafür, dafs latente Malaria besteht, glaube ich in gewissen Veränderungen der roten Blutkörperchen, — im Auftreten der »karyochromatophilen Körner« in denselben — gefunden zu haben.[2])[3])[4]) Diese erscheinen in Kamerun bei den Neuankömmlingen fast ausnahmslos schon vor dem ersten Malariafieber; sie können ihm viele Monate lang voraufgehen ohne gleichzeitige Gesundheitsstörungen; in andern Fällen werden sie von mehr oder weniger schwerer Anämie begleitet. Ich nehme an, dafs diese Körner zu der Form des Malariaparasiten in direkter oder indirekter Beziehung stehen, welche die Infektion während der Latenzperioden — (auch der primären, der »Inkubationszeit«) — unterhält; dafs also das Vorhandensein der Körner als Zeichen für bereits erfolgte Infektion gelten kann. Bestätigt sich dies, wie es den Anschein hat, so wäre damit erwiesen, dafs lange primäre Latenzperioden nicht selten sind.

Wenn wir also voraussetzen dürften, dafs die meisten, welche mit einem Malariaherd in Berührung kommen, nach kurzer Frist infiziert werden, dafs die Infektion unter Umständen aber sehr lange, event. jahrelang — latent bleiben kann, bis vielleicht dieselben Momente, welche so oft zu Rezidiven führen (nämlich Verletzungen, Überanstrengungen, Erkältung, Überhitzung, schroffer Luftwechsel, anderweite Erkrankungen etc.) — auch den Ausbruch

1) Hertz in v. Ziemfsens Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie, 1. Teil.

2) Ich habe diese Bezeichnung gewählt, weil es mir von vornherein klar war, dafs es sich hier teilweise um andere Dinge handelt als die zuerst von Askanazy und Ehrlich beschriebene »basophile Punktierung«. Aufserdem würde der letztere Name schon deshalb nicht passen, weil ein grofser Teil der Körnchen bei Malarischen bei Färbung nach Romanowsky-Ziemann mehr oder weniger deutlich den rot-violetten Farbton annimmt, welcher als neutral angesehen wird. Ich kann auf diese Dinge hier nicht näher eingehen.

3) »Über Tropenanämie und ihre Beziehungen zur latenten und manifesten Malariainfektion.« Deutsche med. Wochenschr., 1898, Nr. 28—30.

4) »Weiteres über Malaria; Immunität und Latenzperiode.» Jena, 1901, G. Fischer.

des Erstlingsfiebers bei den latent Infizierten veranlassen, so fallen viele Schwierigkeiten für das Verständnis der Malariaepidemiologie fort. — Sofern noch nicht bekannte atmosphärische und tellurische Einflüsse in ähnlicher Weise wie jene zufälligen Momente event. dazu mitwirken, bei latent Infizierten Erstlingsfieber und Rezidive auszulösen[1], — würde der parallele Gang der Häufigkeitskurve von Erstlingsfiebern und Rezidiven damit erklärt sein, und ebenso, dafs selbst Epidemien ohne gleichzeitig gegebene ausreichende Infektionsgelegenheit ausbrechen können.[2])

Hier wird man mir — auf Grund der allerneuesten Untersuchungen — entgegenhalten, dafs die Fortdauer der Infektion während der späteren Latenzperioden in ganz anderer Weise gesichert sei als während der »Inkubationszeit« — der primären Latenzperiode, — nämlich durch die Gameten.

Schon zu Anfang der neunziger Jahre haben einzelne Forscher, z. B. Canalis, angenommen, dafs die Halbmonde (Gameten) die Infektion zwischen den Rezidiven unterhielten. Später kam man davon mehr zurück. Erst Grassi sprach wieder vermutungsweise von einer »Parthenogenesis« der Makrogameten.[3]) Ende 1902 hat dann Schaudinn die Umwandlung der Gameten des grofsen Parasitentypus zu Teilungskörpern, zu Schizonten,

1) Es ist bekannt, dafs Leute, welche Malariagegenden verlassen ohne Fieber gehabt zu haben, ganz kurz nach der Ankunft in bestimmten Örtlichkeiten erkranken. So wurde mir erzählt, dafs Mannschaften unserer Kriegsmarine, welche die westafrikanische Station gesund verliefsen und später in Kiel oder Danzig ebenfalls gesund blieben, sofort an Malaria erkrankten, sobald sie nach Wilhelmshafen versetzt wurden, und zwar schon in den allerersten Tagen, so dafs Neuinfektion in Wilhelmshafen ausgeschlossen werden konnte.

2) Schoo hat in allerjüngster Zeit ähnliche Gedanken geäufsert. Aber mit Rücksicht auf die von ihm zitierte Beobachtung Cellis, dafs im Winter geborene Kinder bereits im ersten Frühjahr an Malaria erkranken können — also ohne Gelegenheit gehabt zu haben, von infizierten Mücken gestochen zu werden — sind auch bei Voraussetzung langer Latenzperioden noch nicht alle Rätsel gelöst.[4])

3) a. a. O.

4) La Malaria in Olanda nel 1902. Società per gli studi della Malaria; Roma, 1903.

beschrieben, das mit deren Teilung ausbrechende Fieber direkt verfolgen können und erwähnt, dafs er dasselbe auch bei den Gameten (Halbmonden) des kleinen Parasiten beobachtete. Kurz darauf, aber ganz unabhängig von Schaudinn machte Maurer ähnliche Mitteilungen.[1]) Schaudinn wie Maurer nahmen dementsprechend an, dafs es die Gameten sind, welche den Fortbestand der Infektion während der langen Intervalle zwischen den Rezidiven bewirken. So interessant diese Beobachtungen sind — vor allem als Beweis dafür, wie verschiedenartige Wege diese niederen Organismen zur Erhaltung und Fortpflanzung ihrer Art zu wandeln vermögen, so bestimmt mufs ich doch bestreiten, dafs die Gameten allein überall die Infektion während der Latenzperioden unterhalten können. Es ist bisher meines Wissens nicht bekannt geworden, dafs die Gameten sich aus dem peripherischen Blut in die inneren Organe zurückziehen. Man wird deshalb aus ihrem Vorhandensein in der Peripherie, auch auf ihr Vorhandensein überhaupt schliefsen dürfen. Ich habe nun aus Anlafs meiner Studien über die malarische Anämie das Blut von fast allen im Reichsdienst stehenden Kolonisten auf der Josplatte $1^1/_2$ Jahre lang tunlichst regelmäfsig jeden Monat zweimal untersucht, von den ersten Tagen der Ankunft ab. Aufserdem natürlich während und längere Zeit nach jedem Fieber in ganz kurzen Zwischenräumen. Ich kann deshalb sicher behaupten, dafs sich bei allen unter meiner persönlichen Kontrolle stehenden, und infolgedessen rationell und energisch mit Chinin behandelten Malariakranken die ja nicht zu verkennenden Halbmonde überhaupt niemals gebildet haben.[2]) Und dennoch hatte ein grofser Teil dieser Leute alle 14 Tage oder alle 4 Wochen ein schweres Rezidiv. Auch wenn Kranke mit verschleppten, unzweckmäfsig behandelten Fiebern ins Hospital kamen und

1) a. a. O.

2) Um die primäre Latenzperiode durch Gametenbildung zu erklären müfste man annehmen, dafs die Gameten sich direkt aus den Sporocoiten entwickeln könnten; eine solche Voraussetzung würde wieder Alles auf den Kopf stellen, was wir heute bezüglich der Parasitenbiologie zu wissen glauben.

Halbmonde im Blut führten, oder wenn ich deren Entwicklung bei Zögern mit dem Chinin wegen Schwarzwassergefahr direkt verfolgen konnte, verschwanden sie nach Beseitigung der aktiven Parasiten meistens viel schneller, als mir mit Rücksicht auf die angestrebten Mückeninfektionen lieb war. Manchmal konnte ich schon nach 14 Tagen — längstens nach 6 Wochen — nichts mehr von Halbmonden finden, und bereits vorher waren sie äufserst spärlich geworden. Wir wissen aber, dafs Latenzperioden von 9—12 Monaten gar keine Seltenheit sind, und dafs noch viel längere vorkommen.

Dafs während derartiger Pausen die Gameten eventuell in den inneren Organen, besonders Milz und Knochenmark, fortexistieren sollten, ist schon deshalb nicht wahrscheinlich, weil sie inzwischen durch die Leukocyten vernichtet werden würden. Sowohl ich selber wie andere Forscher haben gut entwickelte Halbmonde in Leukocyten gefunden, und es dürfte die Phagocytose wohl den gewöhnlichen Weg darstellen, welcher zu ihrem Untergang führt.

Wenn ich im vorangegangenen versucht habe, durch die mir auch sonst geboten erscheinende Annahme der Einheitlichkeit des Malariaparasiten und der Möglichkeit oft sehr langer »Inkubationszeiten« (besser: »primärer Latenzperioden«) — gewichtige Bedenken gegen die exklusive Mückentheorie zu beseitigen, so bin ich mir doch bewufst, dafs dies nur in ungenügendem Mafse geschehen konnte, und wir werden gut tun, ernsthaft mit der Möglichkeit zu rechnen, dafs die Situation sich noch in ganz anderer Weise klären kann, nämlich indem sich noch andere Infektionswege herausstellen als die Übertragung durch den Anophelesstich. — Schliefsen wir diese Eventualität von vornherein ganz aus, so läuft die Malariaforschung Gefahr, sich in einer Sackgasse festzurennen.

Ich will diese Dinge hier nicht näher erörtern, um nicht auf das Gebiet der Hypothesen zu geraten, sondern lieber auf dem Boden der gegenwärtig feststehenden Tatsachen untersuchen, welche praktischen Gesichtspunkte für die Verhütung der Malaria und die Assanierung von Fiebergegenden sich bis jetzt ergeben haben.

Sobald die Mücken als Malariaüberträger erkannt waren, bestrebte man sich natürlich zunächst, die Bewohner und Be-

sucher von Malariagegenden gegen die Mückenstiche zu schützen und so eine Infektion zu vermeiden. Um die Mücken im Freien von der Haut fernzuhalten, werden Gesicht und Hände mit Schleier und Handschuhen bedeckt, oder man versucht, die Insekten dadurch zu verscheuchen, dafs man die Haut mit gewissen stark riechenden Substanzen einreibt. Das wesentlichste Mittel ist: den Zugang zu den Wohnungen durch geeignete Vorrichtungen aus Drahtgaze zu versperren.

Es hat sich gezeigt, dafs Einreibungen der Haut von höchst zweifelhafter und stets nur kurzdauernder Wirkung sind, ganz abgesehen davon, dafs die aromatischen Stoffe, welche man meistens dazu benutzt, auf die Dauer nicht ohne Schaden gebraucht werden dürften.

Der Schutz mit Schleiern und Handschuhen wird immer ein unsicherer sein. Das weifs jeder, der damit z. B. auf der Jagd den Blutsaugern zu entgehen versuchte. Dazu kommt, dafs die in heifsen Länderstrichen übliche Tracht den Mücken gestattet, auch an den stets bedeckten Körperteilen ihrem Stechrüssel Zugang zur Haut zu verschaffen, indem sie die Näte der Kleidungsstücke sehr geschickt finden und benutzen. Dafs der Gebäudeschutz durch Drahtnetze fast niemals ein vollkommener sein kann, zeigte sich in Italien, selbst unter der strengen dort geübten ärztlichen Aufsicht. — Häuser, welche wirklich sicher geschützt werden sollen, müssen eigens mit Rücksicht auf diesen Zweck gebaut werden. Sie würden dann voraussichtlich eine ähnliche Form erhalten wie die von den Engländern von diesem Gesichtspunkt aus bereits in Westafrika konstruierten: Die Abbildungen dürften allerdings kaum jemand locken, sie zu beziehen. — Ich mufs gestehen, dafs ich mir bis jetzt noch keine rechte Vorstellung vom Leben in einer Behausung unter dem Äquator machen kann, welche der freien Veranda vollkommen entbehrt, und ich mufs sagen, dafs ich gerne darauf verzichte, mir ein Urteil darüber durch eigene Erfahrung zu bilden. — Rücksichten auf die Kosten und auf die Schwierigkeit, ausgedehnte Drahtnetze immer in gutem Zustande zu erhalten, werden in praxi oft dazu führen, die Netzflächen tunlichst klein zu bemessen auf

Kosten des freien Luftzuges, welcher dem Tropenbewohner sonst die erste Erfrischung bringt, wenn er abends die überhitzten Arbeitsstätten, Bureaus etc. verläſst. Aber es gibt südliche Gegenden, wo die Mückenplage eine derartige ist, daſs man dort gern auf einen Teil der abendlichen Erquickung verzichten würde, um den Stichen der blutdürstigen Insekten zu entgehen. Ich kenne Niederlassungen am Guineabusen — im Delta der sogenannten Ölflüsse, — wo bei den Mahlzeiten über die gemeinsame Tafel zusamt den Sitzplätzen darum eine riesige Gazeglocke niedergesenkt wird, da es sonst, selbst am Tage, wegen der Mückenschwärme ganz unmöglich ist, sich mit einigem Behagen zu sättigen. Natürlich würden hier mückensichere Häuser als unendliche Wohltat empfunden werden.

An Orten wie Kamerun jedoch, wo man die Mücken mühsam aufsuchen muſs, da dürfte die Einführung der Netze auf heftigen Widerstand bei den Kolonisten stoſsen, und wahrscheinlich bewirken, daſs sie sich abends auſserhalb der geschützten Häuser aufhielten. Hier muſs man zufrieden sein, wenn wenigstens das Mosquitonetz um die Bettstatt mit Verständnis gebraucht wird.

In den meisten südlichen Ländern sind die Mücken jedoch häufiger als in Kamerun, wenn sie auch nicht gerade eine Landplage bilden.

Die Bedeutung des Netzschutzes wächst hier dadurch ganz auſserordentlich, daſs auch ein Teil der Rezidive offenbar auf Reinfektion durch erneute Mückenstiche beruht. Nur so kann die in Italien gemachte Erfahrung erklärt werden, daſs der Netzschutz auf die Häufigkeit der Rezidive von Einfluſs ist.

Diese Erfahrung verpflichtet dazu, Mückenschutz tunlichst überall dort anzuwenden, wo sich Anopheles in bemerkenswerter Menge in der Nähe empfänglicher Personen finden. Und wenn es auch nur in den seltensten Fällen gelingen wird, Infektionen auf diese Weise ganz zu vermeiden, so würden sich ihre verderblichen Folgen, die doch groſsenteils in gehäuften Rezidiven begründet sind, — doch vielleicht einschränken lassen.

Mosquitosichere Häuser dürften danach auch als ein unvollkommener Notbehelf für Erholungsbedürftige in Gegenden zu betrachten sein, wo die Anopheles zahlreich sind und Sanatorien in fieberfreier Umgebung fehlen.

Niemals wird man aber bei der Konstruktion solcher Häuser aufser acht lassen dürfen, dafs für die Häufigkeit der Malariarezidive noch andere Momente mafsgebend sind als wiederholte Mückenstiche; und zwar in allererster Linie ungünstige äufsere Lebensverhältnisse, insbesondere Mangel an Luft und Licht. In Kamerun ist lediglich infolge hygienischer Mafsnahmen die Erkrankungshäufigkeit des ersten Monats in den Jahren 1897—1899 bei den Beamten gegen 1894—1896 auf annähernd die Hälfte gesunken. Also keine engen Kasten mit drahtüberzogenen Luftlöchern als Fenster dürfen wir bauen, sondern es müssen hohe, grofse Wohnräume sein, welche die Gebäude in ihrer ganzen Tiefe durchsetzen. Es ist weiter eine ausgiebige Ventilation dicht unterhalb der Zimmerdecke durch geeignete Dachkonstruktion, sowie durch grofse Fensterflächen, die einander genau gegenüberliegen müssen, erforderlich. Ventilations- und Fensteröffnungen müssen durch Drahtgaze verschlossen werden. Endlich sind die Hauswände gegen Überhitzung durch direkte Sonnen- und indirekte Bodenstrahlung zu schützen, indem bei Fortfall der Veranda Schirmkonstruktionen angebracht werden, welche sie einigermafsen zu ersetzen vermögen. Erst wenn sich für die Bewohner solcher Häuser auch in den Tropen eine wesentlich geringere Morbidität herausstellt als für die Bewohner ungeschützter Gebäude, welche nur ihr Mosquitonetz mit Verständnis benutzen, wird ihre allgemeine Einführung ernstlich zu erwägen sein.

Ein anderes wichtiges Mittel zu persönlichem Schutz ist erfahrungsmäfsig systematischer Chiningebrauch. Seit meiner ersten diesbezüglichen Mitteilung habe ich mich in wiederholten Publikationen damit beschäftigt, und darf hier auf diese Arbeiten verweisen.[1]) Auch in Italien und von Koch wurden gute

1) »Zur Prophylaxe der Malaria.« A. Plehn, Berliner klin. Wochenschrift, 1887, Nr. 39. — »Beiträge zur Kenntnis von Verlauf und Behandlung der tropischen Malaria in Kamerun.« Derselbe, Berlin, 1896, bei Hirschwald. — »Zur Chininprophylaxe der Malaria nebst Bemerkungen zur

Erfolge mit verschiedenen Methoden erzielt. Ich mufs aber hervorheben, dafs es noch bei keiner Anwendungsform gelungen ist, sicher zu verhüten, dafs die Infektion überhaupt manifest wird. Nur eine mehr oder weniger starke Abschwächung derselben läfst sich durch zweckmäfsiges Vorgehen fast immer erreichen, indem nach einigen, oft leichten Anfällen die Malaria schliefslich im Zustande permanenter Latenz verharrt, trotz reichlicher Gelegenheit zu Reinfektionen. Wird das Chinin dann lange genug weiter genommen, nachdem keine Gelegenheit zur Reinfektion mehr gegeben ist — (also nach Verlassen des Fieberherdes) — so kann die latente Infektion erlöschen, ohne sich seit Jahren manifestiert zu haben. Wird der Chiningebrauch zu früh sistiert, so ist ein Malariafieber oft die unmittelbare Folge; zuweilen noch nach jahrelanger Latenz der Krankheit.

Es ist sehr wahrscheinlich, dafs dieser Zustand relativer Immunität des Prophylaktikers bei Ausschlufs von Reinfektionen durch gleichzeitigen Netzschutz, rascher eintreten wird. Erweisen liefse sich das nur durch vergleichende Beobachtungen in grofsem Stil.

Aber man hat sich nicht damit begnügt, das Individuum im Fiebergebiet schützen zu wollen, sondern man versuchte bald, auf der Basis der neuen Lehre, ganze Gegenden malariafrei zu machen.

Die nächste Angriffsstelle boten die Mücken selbst. Man hat besonders in den englischen Kolonien Westafrikas unter persönlicher Leitung von Rofs ein System organisiert, welches bezweckt, einerseits die fliegenden Insekten durch Niederschlagen von Gebüsch und Bäumen um die Wohnungen von diesen fernzuhalten, und die etwa eingedrungenen durch Räucherungen etc. zu ver-

Schwarzwasserfrage.« Derselbe. Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene, 1901, H. 12, S. 380. — »Weiteres über Malaria; Immunität und Latenzperiode.« Derselbe, Jena, 1901, bei G. Fischer. — »Schwarzwasserfieber und Chininprophylaxe.« Derselbe, Deutsche med. Wochenschr., 1902, Nr. 38, S. 689. — »Die sanitären und klimatischen Verhältnisse in den deutschen Schutzgebieten.« (Jahresberichte.) Derselbe, Arbeiten aus dem Gesundheitsamte, 1895—1901.

nichten; anderseits die Larven ihrer Brutstätten zu berauben, indem tunlichst alle Tümpel und stehenden Gewässer, namentlich in unmittelbarer Nähe der Wohnungen, durch Abgraben und Auffüllen beseitigt, alle leeren Gefäfse, welche Regenwasser aufnehmen und dann als Entwicklungsstätten dienen könnten, fortgeschafft werden. Läfst sich für eine Wasseransammlung nicht ohne weiteres Abflufs schaffen, so wird sie mit Petroleum begossen, und die Larven und Nymphen ersticken. Sehr guten Erfolg erzielte man in einigen Landschaften Italiens dadurch, dafs man die Süfswasserkanalsysteme zeitweise mit Meerwasser durchflutete, dessen Salzgehalt die Larven tötet.

Dafs energische Entwässerung und Bodenpflege von jeher ein Hauptmittel war, um eine Gegend von Malaria zu befreien, hat die Erfahrung seit Jahrhunderten gelehrt. Ob es dabei allein darauf ankommt, die Menge der Anopheles zu vermindern, ist aber doch wohl nicht ganz sicher. Ich erwähnte bereits, dafs die Malaria aus gewissen Distrikten verschwunden ist, ohne dafs eine Abnahme der Anopheles bemerkbar war. — Auf der andern Seite dürfte es kaum gelingen, gröfsere Gebiete, mit welchen Anstrengungen es sei, derart mückenfrei zu machen, wie es die meisten Gegenden in Kamerun ohnehin sind. Und dennoch kennen wir heute keine intensiveren Malariaherde als gerade diese Gegenden.

Die Bemühungen der Engländer, durch zweckmäfsige Behandlung des Terrains der Malaria den Boden zu entziehen, dürften also keinesfalls vergeblich sein, wenn ihre Wirkung auch vielleicht nicht so unmittelbar eintreten wird, wie manche hoffen. Die Zähigkeit und Energie, mit welcher diese Nation ihre Unternehmungen zielbewufst durchführt, mufs ihr den Erfolg sichern. Jedenfalls sind ihre Bestrebungen als die aussichtsreichsten mit ganz besonderem Interesse zu verfolgen.

Ein anderes System wird von Koch empfohlen und geübt. Koch[1]) hält den gegen die Überträger der Malaria unternommenen Feldzug in den meisten Fällen für praktisch so wenig

1) Reiseberichte; Schlufs- und zusammenfassender Bericht. Deutsche med. Wochenschr., 1898/99.

aussichtsreich, daſs er ganz darauf verzichten will, und es versucht, den Malariaparasiten im Menschen zu vernichten, und so dem Anopheles das Übertragungsmaterial zu nehmen.[1]) — Seitdem sich nun herausgestellt hat, daſs in erster Linie die Eingebornen als Infektionsquellen dienen können, weil namentlich deren Kinder in sehr groſser Zahl die Parasiten beherbergen, — seitdem läſst Koch die Kranken unter den Eingeborenen aufsuchen und energisch mit Chinin behandeln, um diese Infektionsquellen zu vermindern oder zu verstopfen. Die allgemeine Durchführung dieses Verfahrens wird aber dadurch erschwert, daſs der allergröſste Teil der Parasiten im Blut führenden Eingebornen — wenigstens in Westafrika — keinerlei sichtbare Krankheitserscheinungen zeigt;[2])[3])[4]) daſs also erst eine mikroskopische Blutuntersuchung sämtlicher Eingeborner, **auch der völlig gesunden,** sämtliche Infektionsquellen auffinden läſst.

Ich will nicht näher erörtern, ob solche Untersuchungen bei einer nach vielen Tausenden zählenden, ständig fluktuierenden Bevölkerung praktisch durchgeführt werden können, zumal man sie in kurzen Zwischenräumen wiederholen müſste. Ich möchte nur auf die theoretischen Bedenken hinweisen, welche sich gegen eine nachhaltige Chinintherapie bei den Einbornen daraus ergeben, daſs die Eingeborenen bei Durchführung des Kochschen Systems nicht mehr jene Immunität erlangen würden, welche nach Kochs eigener Angabe dadurch zustande kommt, daſs die Malariakranken in der Jugend ohne Chininbehandlung bleiben. — Während gegenwärtig die relative Immunität der Eingebornen ausreicht, um sie unter gewöhnlichen Umständen bei gutem Wohlsein und arbeitsfähig zu

---

1) Frosch, Verhandlungen des Deutschen Kolonialkongresses von 1902; Vortrag in der tropenhygienischen Sektion.

2) Die Malaria der afrikanischen Negerbevölkerung, besonders mit Bezug auf die Immunitätsfrage. A. Plehn, Jena, 1902, bei G. Fischer.

3) Manson, a. a. O., S. 23.

4) Chrostophers und Steffens, a. a. O. etc.

erhalten, auch wenn sie zahlreiche Parasiten beherbergen, würden wir uns durch allgemeine Anwendung des Chinins nach Koch vielleicht eine **malariakranke** Bevölkerung heranzüchten.

Dafs bei einer malariaempfänglichen Eingebornenbevölkerung, wie z. B. bei den Javanen und Malayen der Sundainseln oder bei chinesischen Kulis, ausgiebigster Chiningebrauch nur dringend empfohlen werden kann, versteht sich natürlich von selbst.

Um weite Länderstrecken von der Malaria zu befreien, dafür kommt meines Erachtens nach wie vor nur eine zweckmäfsige Behandlung des Bodens in Betracht, vor allem Drainage; sei es, dafs man sie den Mücken zuleide ausführen will, oder allein auf Grund der alten Erfahrungen über ihren tatsächlichen Nutzen.

Seit das italienische Netzschutzverfahren gelehrt hat, dafs Reinfektionen eine wichtige Rolle beim Zustandekommen der Rezidive spielen, darf man sich durch die Überlegung nicht mehr abhalten lassen, alles für Bodendrainage und Bodenkultur im Bereich der Ansiedlungen zu tun, dafs die Infektion ja doch stets in deren naher Umgebung an Orten erfolgen kann, welche der Assanierung völlig unzugänglich sind. (Mangrovensümpfe.)

Bis die Bodenbehandlung ihre volle Wirkung auszuüben vermag, wollen wir die Ansiedler durch tunlichste Verbesserung ihrer allgemeinen Lebenslage, vor allem, ihrer Wohnungs- und Ernährungsverhältnisse, durch Fernhalten der Mosquitos, wo sie häufig genug sind, um eine wesentliche Rolle für die Infektion zu spielen, und durch ein zweckmäfsiges Chininregime vor den Folgen von Reinfektionen und wiederholten Rezidiven nach Möglichkeit schützen, wenn wir sie vor der Infektion selbst damit auf die Dauer auch nur selten werden bewahren können.

Sehr empfehlenswert wäre es in diesem Sinne, wenn der systematische Chiningebrauch für die Kolonisten, welche sich nach so argen Fieberherden wie Kamerun, Togo, Neuguinea begeben, schon beim Engagement obligatorisch gemacht

und seine Durchführung dann später ex officio kontrolliert würde. — Das ist zeitweise in Kamerun mit bestem Erfolg bei Beamten und Militärs geschehen, und geschieht noch heute von den meisten Leitern der Plantagen und Faktoreien bei ihrem Personal, denn diese Leute haben ein praktisches, persönliches Interesse an der Gesundheit ihrer Untergebenen.[1][2])

In England, wo man sich bekanntlich selbst gegen die zwangsweise Vakzination noch immer ablehnend verhält, wird die zwangsweise Chininprophylaxe immer lauter gefordert, und auch auf dem Kongreſs in Madrid von 1903 trat man dafür ein.

Der Einwand, daſs Chinin selbst zu $^1/_2$ g pro dosi nicht immer vertragen wird, ist insofern nicht stichhaltig, als Leute, die $^1/_2$ g Chinin nicht mehr vertragen, in Malariagegenden überhaupt dienstunfähig sind und dieselben schleunigst verlassen müssen.

---

1) »Weiteres über Malaria; Immunität und Latenzperiode.« A. Plehn, 1902, Jena, bei Fischer.

2) Arbeiten aus dem Gesundheitsamte.

Über das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration.

Von

Dr. **Felix Lewandowsky,**
Assistent am Institute.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Strafsburg.
Direktor: Prof. Dr. Forster.)

Die ersten eingehenden Untersuchungen über den Einflufs konzentrierter Kochsalzlösungen auf Bakterien wurden im hygienischen Institut der Universität Amsterdam von Prof. Forster[1]) und de Freytag[2]) ausgeführt. Es handelte sich dabei um die Beantwortung einer hygienisch bedeutsamen Frage. Denn das Kochsalz in mehr oder weniger starken Lösungen hatte seit alten Zeiten dazu gedient, eine Anzahl wichtiger Nahrungsmittel zu konservieren, d. h. auf diesen die Entwicklung fäulniserregender Mikroorganismen zu verhindern. Nun hatte aber Koch schon im Jahre 1881 darauf hingewiesen, dafs selbst relativ konzentrierte Kochsalzlösungen für Bakterien nur wenig schädlich sind. Es war also aus hygienischen Gesichtspunkten notwendig, die Einwirkung solcher Lösungen auf Mikroorganismen experimentell zu prüfen; von diesen waren natürlich in erster Linie die krankheits- und fäulniserregenden zu berücksichtigen.

---

1) Forster, Over de inwerking van keukenzout op het leven van bacterien. Nederl. Tijdschr. voor Geneeskunde, 1889, II, Nr. 8.

2) de Freytag, Über die Einwirkung konzentrierter Kochsalzlösungen auf Bakterien. Archiv f. Hygiene, 11. Band, 1. Heft, 1890.

So hatte denn auch die de Freytagsche Arbeit ihre äufsere Veranlassung in einem Gutachten, das über die Frage zu erstatten war, ob gesalzenes oder geräuchertes Fleisch einer amtlichen Beschau ebenso unterworfen werden sollte wie das frische Fleisch. Das Resultat der Untersuchungen war die Erkenntnis, dafs eine grofse Reihe pathogener Bakterien in konzentrierten Kochsalzlösungen selbst Monate lang noch lebensfähig und virulent bleiben. Die Versuche de Freytags wurden ergänzt durch Stadler[1]), der die Einwirkung von Kochsalz auf die Gruppe der Fleischvergiftungsbazillen einer eingehenden Prüfung unterzog. Es stellte sich heraus, dafs auch diese Bazillen durch gesättigte Kochsalzlösungen selbst nach mehreren Monaten nicht abgetötet wurden, dafs aber schon bei einem nicht allzugrofsen Kochsalz-Gehalt des Nährbodens Entwicklungshemmung eintrat. Die äufserste Grenze der Entwicklungsfähigkeit wurde für das Bacterium coli und den Bacillus enteritidis als zwischen 7% und 8%, für den Bacillus morbificans bovis zwischen 8% und 10% Kochsalzgehalt des Nährbodens liegend ausfindig gemacht.

Trotz ihrer auch für den Biologen interessanten Ergebnisse beschäftigt sich die Arbeit Stadlers mehr mit dem hygienischen als mit dem biologischen Teil der Aufgabe. In letztgenannter Richtung war die Frage, ob es Bakterien gibt, die noch bei höherem Kochsalzgehalt als 7—10% gedeihen, und welches die höchste Konzentration ist, bei welcher noch eine Vermehrung von Mikroorganismen stattfinden kann; fernerhin war zu untersuchen, ob und in welcher Weise die morphologischen und physiologischen Eigenschaften durch den hohen Kochsalzgehalt des Nährmediums beeinflufst werden. Schliefslich blieb dann noch die Frage nach der Ursache der entwicklungshemmenden Wirkung des Kochsalzes zu beantworten. Die Behandlung dieser Fragen war schon vor Jahren von Prof. Forster, unter dessen Leitung auch die Untersuchungen Stadlers ausgeführt wurden, angeregt worden. Auf seine Veranlassung hatte Lamberts im

1) Stadler, Über die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien, welche bei der sogen. Fleischvergiftung eine Rolle spielen. Archiv f. Hygiene, 35. Bd., 1899.

Jahre 1895 mehrere Bakterien und Hefen gezüchtet, die noch bei einer Kochsalzkonzentration von über 20% in den üblichen Nährflüssigkeiten gediehen. Diese Untersuchungen wurden aber nicht beendet, und die Resultate blieben unveröffentlicht[1]). Später wurden dann von anderer Seite Untersuchungen in dieser Richtung ausgeführt. So studierte Matzuschita[2]) die Einwirkung des Kochsalzgehaltes des Nährbodens auf die Wuchsform der Mikroorganismen; er zeigte, dafs bei einer grofsen Anzahl Bakterien eine Veränderung des Längen- und Breitendurchmessers eintritt, ein besonderes Gesetz oder Regelmäfsigkeit liefs sich darin nicht nachweisen. Wehmer[3]) züchtete aus der Heringslake eine Hefe, die bei 15% NaCl noch sehr gut fortkam. Sehr gründlich untersuchte Petterson[4]) die Mikroorganismen in Fleisch und Fischen, die mit verschieden grofsen Kochsalzmengen, von 5% bis 23%, konserviert waren. Er züchtete fünf verschiedene Arten Kokken, die noch bei 20% NaCl sich entwickelten. Wachstum von Stäbchen wurde nur bis 15% beobachtet. Petterson sieht darin eine prinzipielle Verschiedenheit zwischen Stäbchen und Kokken in bezug auf die Empfindlichkeit gegen Kochsalz. Er erklärt dadurch die fäulnishemmende Wirkung des Kochsalzes. Denn Schwefelwasserstoff, Indol und Phenol, welche die eigentliche Fäulnis charakterisieren, sind in den Konserven immer auf die Tätigkeit von Stäbchenbakterien zurückzuführen. Da nun die Entwicklung dieser Stäbchen viel früher gehemmt wird als die der Kokken, so wirkt das Kochsalz schon als konservierendes Mittel bei einer Konzentration, die das Fortkommen anderer Mikroorganismen noch sehr wohl ermöglicht. Trotz der sorgfältigen Beobachtungen Pettersons war aber die ganze Frage in biologischer Hinsicht noch nicht soweit erledigt, dafs es nicht

---

1) Aufser einer kleinen Notiz in: Stadler, a. a. O., S. 81.

2) Matzuschita, Die Einwirkung des Kochsalzgehaltes des Nährbodens auf die Wuchsform der Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hygiene, 35. Bd., 1900.

3) Wehmer, Zur Bakteriologie und Chemie der Heringslake. Zentralbl. f. Bakteriol., II. Abt., Bd. III.

4) Petterson, Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fisch und Fleisch mit Salzen. Archiv f. Hygiene, 37. Bd., 1900.

von Interesse gewesen wäre, das Verhalten der Bakterien in Kochsalzlösungen von hoher Konzentration zum Gegenstand weiterer experimenteller Arbeit zu machen. Ich folgte daher gern einer Aufforderung von Herrn Prof. Forster, diese Arbeit zu übernehmen, deren Ergebnisse ich in folgendem wiedergebe.

Zunächst handelte es sich darum, aus irgendwelchem Material gegen Kochsalz resistente Bakterien zu gewinnen. Solche Bakterien kommen nach den Erfahrungen von Prof. Forster vielfach in der Natur vor. Um sie zu erhalten, wurde folgendermafsen verfahren. Pasteursche Kölbchen wurden je mit 100 ccm Löfflerscher Bouillon gefüllt. Zu den ersten drei Kölbchen wurden je 10 g chemisch reinen Kochsalzes, zu weiteren drei je 25 g und zu den letzten drei je 35 g hinzugefügt; die so angefertigten Flüssigkeiten bezeichne ich später der Kürze halber als 10 usw. proz. Lösungen. Dann wurden die Kolben im Autoklaven sterilisiert, wobei alle Vorsichtsmafsregeln getroffen wurden, dafs kein Wasserverlust aus denselben stattfand. Nach dem Erkalten zeigte es sich, wie erwartet, dafs sich die 35 g Kochsalz in der Bouillon nicht mehr vollständig gelöst hatten. Wir können die 35 proz. Kochsalzbouillon also als gesättigt bezeichnen. Nun wurden mit drei verschiedenen Materialien, Gartenerde, fein zerschnittenem Kraut und Kuhkot, je ein Kölbchen mit 10 proz., 25 proz. und gesättigter Kochsalzbouillon beschickt; und zwar wurde zur Überimpfung immer etwa eine Messerspitze von dem Ausgangsmaterial genommen. Die Kölbchen wurden dann im Brutschrank bei 30° aufbewahrt. Nach 4 Tagen wurde von jeder dieser Anreicherungen mittels einer 2 mg-Öse eine Gelatineplatte gegossen. Die 10 proz. Anreicherungen zeigten reichliche Bakterienentwicklung, während die Platten von den 25 proz. und gesättigten Kochsalzlösungen steril blieben. Aus der Gartenerde waren bei 10% $NaCl$ aufgegangen: verschiedene Kokken in grofser Anzahl, ein Gelatine nicht verflüssigendes Stäbchen ziemlich reichlich und einzelne Mesenterikuskolonien. Dieselbe Vegetation zeigten auch die vom Kuhkot gegossenen Platten, aufserdem ganz vereinzelte Kolonien eines zur Koligruppe gehörenden Bazillus; diese letzteren wurden bei späteren Aussaaten nicht mehr ge-

funden. Aus dem Kraut gingen vorzugsweise Kokken auf, daneben Mesenterikus in einzelnen Exemplaren. — Sechs Tage nach der Aussaat wurden dann von den 25proz. und gesättigten Kochsalzanreicherungen nochmals Gelatineplatten gegossen, diesmal mit je drei Spiralen à 53,3 mg. Aus der 25proz. Kochsalzbouillon entwickelten sich von allen drei Aussaaten mäfsig reichliche Kolonien auf der Platte, gröfstenteils aus Kokken bestehend, daneben auf den Platten von Kraut und Erde ein noch näher zu beschreibendes Stäbchen, auf allen Platten vereinzelte Mesenterikuskolonien. Auf den Platten von den gesättigten Kochsalzlösungen gingen nur vereinzelte Kokken und Mesenterikuskolonien auf. Bei späteren Aussaaten von der gesättigten Kochsalzbouillon verschwanden die Kokken gänzlich, während Bac. mesentericus sich zwar nicht vermehrt, aber sich durch seine Sporen noch nach 8 Monaten lebensfähig erhalten hatte. Von Kokken konnten nach dieser Zeit noch einzelne Exemplare mikroskopisch nachgewiesen werden, kamen aber auf Platten und selbst bei Übertragung von gröfseren Mengen der Anreicherung in frische Bouillon nicht mehr zur Entwicklung. In den 25proz. Anreicherungen fand hingegen seit der ersten Aussaat reichliche Vermehrung der Kokken und der erwähnten Bazillen statt, so dafs die Aussaat von 2 mg, die nach vier Tagen steril geblieben war, nach einem Monat auf der Platte unzählige Kolonien ergab. Noch nach 8 Monaten gingen von einer gleich grofsen Aussaat zahllose Kolonien jener beiden Mikroorganismen auf. Der Bacillus mesentericus vermehrte sich auch in 25proz. Kochsalzbouillon nicht; eine Häutchenbildung wurde überhaupt nur bis höchstens 10 % Kochsalzgehalt der Bouillon beobachtet.

Es wurden nunmehr Reinkulturen des Kokkus und des Bazillus angelegt, deren Beschreibung hier folgen mag.

I. Mikrokokkus.

Kokken von 0,8—1 μ Durchmesser in unregelmäfsigen Häufchen gelagert. Zahlreiche Exemplare mit mittlerer Teilungslinie, färbbar mit allen Anilinfarben, Gramfärbung positiv. Das Temperatur-Optimum liegt zwischen 30 und 37°, bei 24° noch gutes

Wachstum, bei Zimmertemperatur nur sehr kümmerliche Entwicklung. Anaerob kein Wachstum. Gelatine wird langsam verflüssigt; im Gelatinestich beginnt die Verflüssigung am vierten Tage und schreitet in den nächsten Wochen trichterförmig fort. Auf der Gelatineplatte runde gelbe Kolonien, um welche sich nach einigen Tagen eine flache Verflüssigungszone bildet. Bouillon wird nach 24 Stunden mäfsig getrübt; aufser der Trübung fadenziehender Bodensatz. Später hellt sich die Bouillon fast ganz auf, und es bildet sich ein dicker, aufserordentlich zäh zusammenhängender, beim Schütteln nur schwer zerteilbarer Bodensatz. Auf Agarplatten sind die oberflächlichen Kolonien dick, weifs, von mattem Glanz, von 3—5 mm Durchmesser, annähernd kreisrund, mit scharfem Rand. Mit schwacher Vergröfserung betrachtet, erscheint das Zentrum dunkler als der Rand. Die tiefen Kolonien sind punktförmig. Auf dem Agarstrich weifse Leiste von mattem Glanz, der gezähnelte Rand läfst noch die einzelnen Kolonien unterscheiden. Im Agarstich nur Wachstum in den oberen Partien als punktförmige Kolonien, und an der Oberfläche als dicke weifse Scheibe, in der Tiefe kein Wachstum. Auf gewöhnlichem und auf Löfflers Blutserum saftig gelblicher Belag mit zackigem Rand. Auf der Kartoffel längs des Impfstriches dicker, trocken aussehender, weifslicher Belag. In Milch wird keine Veränderung hervorgerufen; keine Säurebildung. Indol nach drei Wochen in ganz minimalen Spuren. Durch zehn Minuten langes Erhitzen auf 60° wird der Kokkus abgetötet. Auf Agarkulturen, die ohne Gummikappe bewahrt wurden, war der Kokkus nach 3 Monaten nicht mehr lebensfähig. (Darin ist aber keine Wirkung der Austrocknung zu sehen, sondern eine Folge von Veränderungen des Nährbodens, erhöhte Konzentration, veränderte Reaktion u. dgl.) In 25 proz. NaCl-Bouillon waren die Kokken nach 8 Monaten noch lebensfähig. Keine Pathogenität.

2. Bazillus.

Ziemlich regelmäfsige zylindrische Stäbchen mit abgerundeten Enden, 2—4 μ lang, $^1/_2$ μ breit, meist parallel gelagert, häufig auch Fadenbildung und Lagerung von zwei Exemplaren hintereinander;

auf alten Agarkulturen zahlreiche Involutionsformen, gekrümmte, Keil- und Keulenformen, langsame Eigenbewegungen, mittelständige Sporen. Färbung mit allen Anilinfarbstoffen, Gramfärbung positiv. Temperaturoptimum bei 30—37°, aber noch gutes Wachstum bei Gelatine- und Zimmertemperatur. Bei Sauerstoffabschlufs kein Wachstum. Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte sind die oberflächlichen Kolonien rund, hellgrau, durchsichtig, etwa 3 mm im Durchmesser; mit schwacher Vergröfserung betrachtet Rand unregelmäfsig, heller als die Mitte. Auf Gelatinestich zarte hellgraue Leiste, feuchtglänzend mit gezähntem Rand. Im Stich Wachstum in Gestalt punktförmiger Kolonien nur in den oberen Partien. Die Bouillon zeigt nach 24 Stunden mäfsig starke homogene Trübung, nach einigen Tagen bildet sich zäher Bodensatz, die Bouillon wird aber nicht aufgehellt. Auf Agar-Platten feuchtglänzende hellgraue Kolonien. Längs des Agarstriches dicke feuchtglänzende Leiste, die sehr zäh zusammenhält, so dafs sich mit der Öse nur gröfsere Partien auf einmal als Häutchen abziehen lassen. Auf gewöhnlichem Blutserum feuchtglänzender leicht gelblicher Belag. Auf Löfflers Blutserum zarter, nur wenig erhabener, farbloser Belag. Auf der Kartoffel dünner unsichtbarer Belag. Keine Säure-, keine Indolbildung, keine Gärungen. Der Bazillus wird erst durch 15 Minuten langes Erhitzen im strömenden Dampf bei 100° abgetötet; keine Pathogenität.

Was die Stellung dieser beiden Mikroorganismen im bakteriologischen System anbetrifft, so habe ich eine ganz entsprechende Beschreibung derselben in der Literatur bisher nicht finden können. Der Kokkus kommt am nächsten dem von Petterson unter Nr. IV beschriebenen. Doch unterscheidet er sich von diesem durch die bedeutend raschere Gelatineverflüssigung und dadurch, dafs er keine Säure in Milch bildet. Ein Analogon meines Bazillus ist mir bisher unbekannt geblieben.

Wie verhalten sich nun diese Mikroorganismen in der hochprozentigen Kochsalzbouillon? Morphologische Veränderungen konnten nicht konstatiert werden. Bei den Kokken war dies von vornherein nicht anders zu erwarten, aber auch die Bazillen

behielten ihre vollkommen regelmäfsige Form. Dagegen verloren sie die Beweglichkeit, und die Fadenbildung scheint zuzunehmen. Beim Betrachten der Wachstumsschnelligkeit macht sich eine starke Entwicklungshemmung bemerkbar. Bei Überimpfung nicht allzugrofser Mengen konnte das Bakterienwachstum in 25 proz. Na Cl-Bouillon oft erst nach über 8 Tagen makroskopisch wahrgenommen werden. Die Zahl der überimpften Keime erwies sich überhaupt als von Bedeutung. Wurden nur geringe Mengen in die Kochsalzbouillon überimpft, so blieb manchmal das Wachstum überhaupt aus. Bei Einsaat grofser Mengen fand anfangs eine Verminderung der Bakterienzahl statt, auf die dann eine langsam ansteigende Zunahme folgte, wie ja auch schon Stadler[1]) und später Petterson[2]) beobachtet haben. Folgendes Beispiel mag diese Entwicklungshemmung veranschaulichen:

Aus einer gewöhnlichen Bouillonkultur der Kokken wurden ausgesät in 25 proz. Na Cl-Bouillon und in gewöhnlicher Bouillon je 2 mg. Dann wurden von der Kochsalz- und der gewöhnlichen Bouillon sofort und an den folgenden Tagen mit je 2 mg Agarplatten gegossen.

Tabelle I.

Bei Plattengufs	25 proz. Na Cl-Bouillon	Gewöhnliche Bouillon
Sofort . . .	16	50 Kolonien
Nach 1 Tag .	6	unzählige Kol.
» 2 Tagen	12	—
» 5 »	56	—
» 6 »	150	—
» 8 »	300	—
» 9 »	650	—
» 14 »	sehr zahlreiche	—

Es wurden nun Versuche darüber angestellt, ob es möglich wäre, durch fortgesetzte Züchtung auf hochprozentigen Kochsalznährböden die Mikroorganismen noch an höhere Konzentrationen zu gewöhnen. Um jede gröfsere Schwankung im Kochsalzgehalt und die sich vielleicht daraus ergebenden Schädigungen der Bak-

1) a. a. O.
2) a. a. O

terien zu vermeiden, wurde nicht von den Reinkulturen derselben auf den gewöhnlichen Nährmedien ausgegangen. Es wurde Agar mit 20% Kochsalzgehalt hergestellt und mit diesem Agar direkt von den 25proz. Anreicherungen Platten gegossen. Schon nach 2—3 Tagen gingen auf diesen Platten reichliche Kolonien auf. Von diesen wurde dann auf schräg erstarrtes 20proz. NaCl-Agar überimpft, und die Bakterien mehrere Male auf frisches Kochsalzagar übertragen. Dann wurde von dem Bakterienrasen einer 20proz. NaCl- Agarkultur eine grofse Quantität in 30proz. und in gesättigte Kochsalzbouillon gebracht. Es erfolgte keine Vermehrung. Während die erste Aussaat von 2 mg aus der 30proz. NaCl- Bouillon noch auf der Platte unzählige Kolonien ergeben hatte, gingen nach 14 Tagen nur vereinzelte, später gar keine mehr auf. Aus der gesättigten Kochsalzbouillon waren schon nach 10 Tagen keine Kolonien auf der Platte mehr aufgegangen. Ein Wachstum in Lösungen mit über 25% NaCl konnte nicht erzielt wernen. Es zeigte sich ferner, dafs die Bakterien, die vom 20proz. NaCl-Agar in 25proz. NaCl-Bouillon übertragen wurden, darin nicht besser wuchsen als die aus gewöhnlichen Kulturen übertragenen, dafs die Bakterien also gegen die grofsen Konzentrationsschwankungen nicht empfindlich waren.

In der Abnahme und dem schliefslichen Verschwinden der Kolonien ist natürlich keine sichere Abtötung durch das Kochsalz zu erblicken. Es geht nur eine grofse Anzahl von Bakterien zugrunde, so dafs eine kleine Aussaat auf der Platte keine Kolonien mehr liefert. Bei Überimpfung gröfserer Mengen aus der gesättigten NaCl- Bouillon kann man in den ersten Monaten immer noch das Vorhandensein lebensfähiger Keime nachweisen.

Fragen wir nach der Ursache dieser entwicklungshemmenden und auch bakterientötenden Wirkung der stark konzentrierten Kochsalzlösungen, ob sie eine spezifisch chemische oder eine blofs physikalische ist, so wird uns hier am besten der Vergleich mit dem Verhalten anderer Salze belehren. Es wurde zunächst das Kaliumchlorid herangezogen. Ein Vorversuch hatte gezeigt, dafs unsere Bakterien in 20- und in 25proz. KCl-Bouillon schon nach 3 Tagen reichlich gewachsen waren. Es wurden also drei

Röhrchen, das erste mit 25 proz. Na Cl-, das zweite mit 25 proz. K Cl- und das dritte mit gewöhnlicher Bouillon mit gleichen Mengen der Kokken geimpft und mit je 2 mg Platten gegossen.

Tabelle II.

Bei Plattengufs	Na Cl 25 %	K Cl 25 %	Gewöhnliche Bouillon
Sofort . . .	3	2	3
Nach 1 Tag .	0	0	unzählige
› 2 Tagen	0	200	—
› 3 ›	0	1 400	—
› 4 ›	0	4 800	—
› 5 ›	0	5 800	—

Die Einsaat war also so gering gewesen, dafs in 25 proz. Na Cl-Bouillon gar keine Entwicklung stattgefunden hatte; trotzdem hatten sich die Bakterien in der 25 proz. K Cl-Bouillon schon nach 3 Tagen reichlich vermehrt. Dieses verschiedene Verhalten bei gleichen Gewichtsteilen der Salze liefs es wahrscheinlich erscheinen, dafs es sich bei der Kochsalzwirkung vorwiegend um eine molekulare Wirkung handelt. Es wurden daher nun Versuche mit äquimolekularen Lösungen der beiden Salze angestellt. Von derselben Bouillon ausgehend, wurden drei Lösungen hergestellt: eine mit 25, die zweite mit 19,6 Gewichtsprozent Kochsalz und eine dritte mit 25 Gewichtsprozent Kaliumchlorid. Die 19,6 proz. Na Cl- und die 25 proz. K Cl-Bouillon enthalten die gleiche Anzahl Moleküle. Es wurde von jeder der drei Lösungen je 5 ccm mittels steriler Pipette in ein steriles Reagensglas gebracht und in dieses je 2 mg einer 24 stündigen Bouillonkultur der Kokken geimpft, dann wurden mit 2 mg, wie in den vorigen Versuchen, Platten angelegt.

Tabelle III.

Bei Plattengufs	Na Cl 25 %	Na Cl 19,6 %	K Cl 25 %
Sofort . . .	7	5	5
Nach 1 Tag .	2	11	12
› 3 Tagen	22	404	453
› 4 ›	75	1 152	1 344
› 5 ›	840	sehr zahlreiche	unzählige

Wir sehen also, dafs sich hier die 19,6 proz. Na Cl-Bouillon und die 25 proz. K Cl-Bouillon in bezug auf die Entwicklungshemmung annähernd gleich verhalten, während die 25 proz. Na Cl-Bouillon eine bedeutend stärkere Entwicklungshemmung zeigt als die beiden andern. Die Übereinstimmung in dieser Tabelle war noch durch Versuche mit andern Salzen zu bekräftigen. Frühere Versuche hatten schon gezeigt, dafs in den Nitraten von Natrium und Kalium die beiden Mikroorganismen bei 25 % üppig gedeihen. (Im Natriumacetat war sogar bei 30 % nach 2 Tagen schon reichliche Vermehrung beobachtet worden.) Ich stellte nun Parallelversuche mit Nitraten und Chloriden in folgenden äquimolekularen Lösungen an.

Tabelle IV.

Bei Plattengufs	KNO_3 20 %	$NaNO_3$ 16,8 %	KCl 14,8 %	NaCl 11,6 %
Sofort . . .	6	8	4	4
Nach 1 Tag .	985	480	870	450
» 2 Tagen	3 265	2 140	unzählige	1 920

Auch diese Tabelle zeigt annähernde Übereinstimmung in der Wachstumshemmung, doch scheint es, als ob diese bei den Kaliumsalzen geringer ist als bei den Natriumsalzen. Um dies näher zu erforschen, wurde ein Versuch angestellt, in dem das Verhalten einer 34,5 proz. KNO_3-Bouillon und das einer äquimolekularen 20 proz. Na Cl-Bouillon verglichen werden sollte. Es lösen sich aber 34,5 g KNO_3 in 100 ccm Bouillon nicht mehr vollständig. Obgleich daher das Experiment nicht über eine Wirkung äquimolekularer Lösungen Aufschlufs gibt, lasse ich es hier folgen, da es immerhin zeigt, wie sich unsere Bakterien in gesättigter Kaliumsalpeterlösung verhalten.

(Siehe Tabelle V auf S. 58.)

Wir sehen also, dafs sich in einer gesättigten Kaliumsalpeterlösung die Bazillen schon nach 2 Tagen, die Kokken nach 3 Tagen ins Unzählige vermehrt haben, während in einer 20 proz.

NaCl-Bouillon die Entwicklung zur gleichen Zeit bedeutend gehemmt ist. Einen Vergleich zwischen äquimolekularen Lösungen von Natrium- und Kaliumsalzen soll die folgende Tabelle VI ermöglichen.

Tabelle V.

Bei Plattengufs	Kokken		Bazillen	
	NaCl 20%	KNO_3 gesättigt	NaCl 20%	KNO_3 gesättigt
Sofort . . .	8	7	verunreinigt	4
Nach 1 Tag .	2	0	1	0
» 2 Tagen	82	584	3	unzählige
» 3 »	490	unzählige	142	—

Tabelle VI.

Bei Plattengufs	KNO_3 30%[1]		$NaNO_3$ 25%		KCl 22%		NaCl 17,3%	
	Bazillen	Kokken	Bazillen	Kokken	Bazillen	Kokken	Bazillen	Kokken
Sofort . . .	2	1	4	5	1	0	1	1
Nach 1 Tag .	210	7	5	2	390	86	3	4
» 2 Tagen	unzähl.	1 695	895	63	unzähl.	unzähl.	verungl.	88
» 3 »	—	—	—	—	—	—	155	151

Es ergibt sich also in der Tat ein Unterschied zwischen Kalium- und Natriumsalzen derart, dafs in der Kaliumnitrat und -chloridbouillon die Entwicklungshemmung entschieden geringer ist als in den Lösungen der entsprechenden Natriumsalze.

Betrachten wir das Ergebnis dieser Versuche, so ist zunächst die Tatsache biologisch höchst interessant, dafs Organismen bei einem so hohen Salzgehalt des umgebenden Mediums und des eigenen Zelleibes die vitalen Funktionen nicht einstellen, sondern sich sogar noch reichlich vermehren. Dafs in der Bakterienzelle das Salz wirklich in der gleichen Konzentration sich befindet wie in der Kulturflüssigkeit, mufs von vornherein

1) Auch aus der 30proz. KNO_3-Bouillon fallen beim Erkalten noch einige Kristalle von Kaliumnitrat aus, so dafs auch diese Lösung den andern Lösungen nicht ganz äquimolekular ist.

angenommen werden. Denn vorausgesetzt, der Protoplasmakörper wäre für das Kochsalz impermeabel, so wäre ein Fortkommen unter einem so ungeheuren osmotischen Druck, wie er dann bestehen müfste, erst recht unerklärlich. Hat es sich doch herausgestellt, dafs diejenigen Bakterien, die zu der von A. Fischer[1]) aufgestellten Gruppe der impermeablen Bakterien gehören, schon durch einen verhältnismäfsig geringen Kochsalzgehalt des Nährbodens in ihrem Wachstum gehemmt werden; der Bazillus der Hühnercholera, Bacillus fluorescens liquefaciens, Bacillus typhi, Bacillus pyocyaneus, Bacillus prodigiosus, vibrio cholerae, alle Vertreter jener Gruppen, wachsen bei einer Kochsalzkonzentration von über 5% schon kümmerlich oder garnicht. Die permeablen Bakterien hingegen sind auch gegen höhere Konzentrationen wenig empfindlich. Die Bestimmung des Kochsalzes im Bakterienleib ist wegen der geringen Menge des Materials aufserordentlich schwierig, es wäre aber immerhin nicht unmöglich, mit dem Inhalt einiger hundert Kulturröhrchen den Nachweis zu führen, dafs auch bei Wachstum in 25 proz. NaCl-Bouillon der Kochsalzgehalt der Bakterienzelle dem der umgebenden Flüssigkeit entspricht. Es sind allerdings sicher nur ganz wenige Arten, die bei einer Konzentration von 25 proz. NaCl sich noch entwickeln. Versuche mit beliebigen andern Bakterien und Kokken fielen stets negativ aus. Abweichend von den Angaben Petterson's[2]), der Wachstum von Stäbchen nur bis 15 proz. NaCl beobachtet hat, ist das Verhalten des von uns gezüchteten Bazillus. Doch sind sowohl mein Kokkus als Bazillus, was die Bildung von Stoffwechselsprodukten anbetrifft, sehr wenig aktiv, kommen also als Fäulniserreger keineswegs in Betracht. Dafs beide Mikroorganismen streng aerob sind, stimmt zu den Beobachtungen von Petterson, der bei den Anaeroben eine viel gröfsere Empfindlichkeit gegen Kochsalz gefunden hat als bei den Aeroben.

Zur Theorie der Wirkung hochkonzentrierter Salzlösungen haben die Versuche ergeben, dafs es in erster Linie die mole-

1) Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl., 1903, S. 20.

2) a. a. O.

kulare Konzentration ist, die vielleicht durch Wasserentziehung die Entwicklungshemmung bedingt. Während beim Kochsalz eine Lösung von 25 % (= 4,3 mol.) die höchste Konzentration darstellt, bei der noch ein Wachstum möglich ist, gelingt es selbst nicht durch Sättigung der Nährflüssigkeit mit Kaliumnitrat die üppige Entwicklung von Bakterien zu verhindern, da dies letztere Salz wegen seiner geringeren Löslichkeit nicht in einer entsprechenden molekularen Konzentration zur Anwendung gelangen kann. Dies erklärt auch die äufserst geringe Desinfektionskraft des Kalisalpeters, die schon Petterson erwähnt. Es zeigt sich ferner, dafs, abgesehen von der Frage des Wohlgeschmackes, von den einbasischen Salzen der Alkalien, das Kochsalz zu Konservierungszwecken am geeignetsten ist, da es bei Lösung gleicher Gewichtsteile eine höhere molekulare Konzentration hat als die andern Salze. Anderseits weisen die Versuche deutlich darauf hin, dafs neben der molekularen Wirkung noch eine spezifische Jonenwirkung der Salze zur Geltung kommt. Die Natriumsalze wirken bei gleicher molekularer Konzentration etwas stärker entwicklungshemmend als die Kaliumsalze; das spricht sich in den oben angeführten Tabellen ziemlich klar aus. Man darf natürlich nur die Zahlen aus einer Tabelle mit einander vergleichen; denn wenn man bei den gleichen Konzentrationen desselben Salzes in den verschiedenen Tabellen etwas andere Werte für die Entwicklungshemmung findet, so sind diese Differenzen wohl auf Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der Bouillon zurückzuführen; die Lösungen aber, die wir in einer Tabelle angeführt haben, sind alle von der gleichen Bouillon hergestellt. Vielleicht erklärt sich jener Unterschied in der Kalium- und Natriumwirkung daraus, dafs der Pflanzennatur der Bakterien entsprechend die Kaliumsalze mehr assimiliert werden als die Natriumsalze.

Meine Versuche über das verschiedene Verhalten der einzelnen Salze sind noch unvollständig und weit entfernt eine Lösung der Frage zu bringan. Sie regen aber dazu an, weiter in gröfseren Versuchsreihen mit verschiedenen Salzen dies Verhalten zu prüfen. Wahrscheinlich gelangt man dann dazu, in

der Wirkung der Salze auf die Mikroorganismen dieselbe Gesetzmäfsigkeit zu finden, wie sie neuerdings Pauli[1]) für die eiweißfällenden Eigenschaften der Salze festgestellt hat.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Forster, sage ich meinen aufrichtigen Dank für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und für die bei derselben erfahrene Förderung.

1) W. Pauli, Verhalten der Eiweifskörper gegen Elektrolyte. Beitr. zur chem. Physiologie u. Pathol., Bd. III, S. 225, 1902.

Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot.

XII. Neue Beiträge zur Bakteriologie der Mehlteiggärung und Sauerteiggärung.

Von

Dr. **Fritz Levy,**

ehem. Volontärassistenten am Institut, jetzigem Volontärassistenten der I. Medizinischen Universitätsklinik in Berlin.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

Einleitung.

Die Frage der Gärung des Brotteiges ist schon seit langer Zeit ein Gegenstand des Interesses der Forscher gewesen, ohne daſs jedoch angesichts ihrer verschiedenartigen Resultate die erwünschte endgültige Aufklärung über das alltägliche Phänomen der Teiggärung erbracht worden wäre. Eine Übersicht über die vorhandene ältere Literatur erscheint überflüssig; ich verweise in dieser Hinsicht auf die ausführlichen Literaturangaben in den sogleich zu erwähnenden Arbeiten von Wolffin und Holliger.

Im Jahre 1894 beschäftigte sich Alexander Wolffin[1]) im Würzburger Hygienischen Institut mit der Frage der Teiggärung. Er fand neben der Hefe im Sauerteig regelmäſsig einen dem Bacterium coli commune nahestehenden gas- und säurebildenden Spaltpilz, den er als Bakterium levans (Lehmann und Wolffin) beschreibt und bei gewissen Formen der Teiggärung für hervorragend beteiligt hält.

Die Arbeit von Wolffin wurde auf Veranlassung von Herrn Professor Lehmann durch mehrere Nachuntersucher ergänzt,

1) Alexander Wolffin, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggärung. Inaug.-Dissert., 1894. Arch. f. Hyg.

von denen F. Fränkel[1]) auch im Weifsbrotteig Bacterium levans nachwies. Zugleich fafste er seine Verwandtschaft mit Bacterium coli noch enger auf, da er die von Wolffin vermifste Indolbildung und Milchkoagulation regelmäfsig positiv fand. Papasotiriu[2]) schliefslich kommt aus diesem Grunde zu dem Schlufs, dafs der Name »Bacterium levans« als überflüssig zu betrachten sei und dafs in Wirklichkeit Bacterium coli den Erreger der bakteriellen Teiggärung darstelle; damit war zugleich auch ein interessanter Beitrag für die Ubiquität des B. coli gegeben und die geringe Bedeutung seines Nachweises für die Frage der Wasserverunreinigung dargetan.

Diese Ergebnisse der Wolffinschen und der übrigen Arbeiten aus dem Würzburger Hygienischen Institut blieben jahrelang unwidersprochen, bis im vorigen Jahre Wilhelm Holliger[3]) seine unter Burris Leitung angestellten sehr sorgfältigen und ausführlichen Untersuchungen über Mehlteiggärung veröffentlichte, in denen er zu Resultaten gelangte, welche von den Wolffinschen in wesentlichen Punkten abwichen. Insbesondere wies er nach, dafs Wolffin die Bedeutung der gasbildenden Spaltpilze bei der Gärung mit Sauerteig erheblich überschätzt habe. Seine Auffassung von dem Wesen der Sauerteiggärung werden wir ebenfalls an späterer Stelle in Kürze zu besprechen haben.

Bei der »spontanen«, d. h. der ohne Fermentzusatz nur durch Mischung von Mehl und Wasser bewirkten Teiggärung findet Holliger ein weifses, dem Wolffinschen »Bacterium levans« ziemlich entsprechendes Bakterium als Gärungserreger wieder, aufserdem aber eine zweite, gelbe Kolonien bildende Art, den »gelben Gasbildner«.

Der Holligersche »weifse Gasbildner«, Bakterium levans, ist jedoch nach seinen Untersuchungen entgegen den Schlüssen

1) F. Fränkel, Über das konstante Vorkommen eines zur Koligruppe gehörigen Bazillus im Weifsbrotteige. Inaug.-Dissert., Würzburg, 1896.

2) J. Papasotiriu, Untersuchungen über das Vorkommen des Bacterium coli im Teig, Mehl und Getreide etc. Archiv f. Hygiene, Bd. XLI.

3) Wilhelm Holliger, Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankh., II. Abt., Bd. IX, 1902.

Fränkels und Papasotirius, nicht mit Bacterium coli identisch, sondern ohne Schwierigkeit von diesem zu unterscheiden, a) durch die Verflüssigung der Gelatine, b) (wie dies schon von Wolffin angegeben war) durch die quantitative Zusammensetzung des bei der Zuckergärung gebildeten Gases. Weniger zuverlässige Unterscheidungsmerkmale bilden das Aussehen der Gelatineplattenkolonien und die Intensität und Art der Beweglichkeit.

Von Herrn Professor Lehmann angeregt, die Nachprüfung dieser Ergebnisse an Würzburger Material zu unternehmen, interessierte mich in erster Linie die Frage, ob sich wirklich bei exakter methodischer Untersuchung einer gröfseren Reihe von Würzburger Teigkolistämmen die von Holliger aufgestellten Merkmale zur Unterscheidung vom bekannten Typus des Bacterium coli commune Escherich bestätigen liefsen und ob sich auch bei uns der gelbe Gasbildner Holligers findet. Demgemäfs werden in den nachstehenden Ausführungen in der Hauptsache folgende Fragen behandelt werden:

I. Läfst sich das von Holliger bei der spontanen Teiggärung, von Wolffin bei spontaner und Sauerteiggärung isolierte Bacterium levans von Koli deutlich unterscheiden, resp. pafst die Holligersche kritische Differentialdiagnose zwischen Koli und levans auch für Würzburger Verhältnisse?

II. Sind neben Bacterium levans noch andere gas- und säurebildende Spaltpilzarten bei der Mehlgärung tätig, und in welchem Verhältnis stehen sie zu Bacterium levans?

Anschliefsend sollen in einem dritten Abschnitt noch einige Beiträge zur Frage der Sauerteiggärung selbst gegeben werden, welche insbesondere die Frage betreffen:

III. Sind im Würzburger Sauerteig die gas- und säurebildenden Bakterien regelmäfsig zu finden und welche Bedeutung kommt ihnen neben der Hefe bei dem Prozefs der Sauerteiggärung zu?

I. Untersuchungen über das Würzburger Bacterium levans[1]) und Vergleichung desselben mit Bacterium coli an der Hand der Holligerschen Kriterien.

a) Herkunft der untersuchten Stämme.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf die gewöhnlichen morphologischen und biologischen Kriterien nach dem Schema von Lehmann und Neumann.[2]) Das Material bildeten 14 Stämme des Bacterium levans, welche teils aus Sauerteig, teils aus mit Sauerteig angesetztem Mehlteig gezüchtet waren. Zur Isolation dienten zwei Methoden: Direkte Gelatineplatten aus dem Teig und Gelatineplatten aus einer 24stündigen Vorkultur in 1proz. Traubenzuckerbouillon, wie dies Wolffin stets getan hatte.

Von den 14 Stämmen waren 7 (die Stämme I, II, III, IV, VIII, XI, XIV) aus fünf verschiedenen Sauerteigen von Bäckern, die andern sieben (V, VI, VII, IX, X, XII, XIII) aus gärendem Sauerteigmehlbrei gewonnen. Vier der letzteren (VI, VII, IX und X) verdanke ich der Güte des Herrn Dr. Armand, Assistenten am Hygienischen Institut, welcher sie mit denselben Methoden wie ich isolierte, und sie mir in liebenswürdigster Weise zur näheren Untersuchung zur Verfügung stellte. Es sei hier gleich erwähnt, dafs ich aufser dem »weifsen Gasbildner« Levans in der Mehrzahl der untersuchten Teige daneben zwei Arten von gelbe Kolonien bildenden Kurzstäbchen fand, deren eine dem »gelben Gasbildner« Holligers entspricht; auf ihre Beschreibung werden wir später zurückkommen.

Aufser unsern eigenen 14 Levansstämmen, welche sämtlich kurz nach ihrer Isolierung aus den Muttermedien zur Untersuchung kamen, wurden drei alte, im hiesigen Institut fortgezüchtete Levansstämme der Untersuchung unterworfen. Von ihnen

1) In meiner Darstellung bezeichne ich mit »Bacterium levans« in Teil I den von Wolffin beschriebenen koliartigen, weifsen Organismus des Teiges, gleichgültig ob er Gelatine verflüssigt oder nicht, ob er viel oder wenig Wasserstoff bildet u. s. f.

2) Lehmann und Neumann, Bakteriolog. Diagnostik, 2. Aufl., 1899.

wär Levans a von B. Wolff vor ca. 9 Jahren aus Weifsbrotteig. Stamm b von Wolffin aus Schwarzbrotteig, Stamm c, wahrscheinlich von Papasotiriu, aus Sauerteig isoliert.

b) Tabellarische Übersicht der Befunde an 17 Levansstämmen.

Ich glaube am kürzesten zunächst in tabellarischer Form nach den Untersuchungsprotokollen der 17 Levansstämme den am häufigsten beobachteten Typus »Levans« zu beschreiben und ihm die wichtigsten Abweichungen einzelner Stämme gegenüberzustellen. An der Hand dieser Tabelle soll dann mein »Levans« mit dem von Wolffin zuerst beschriebenen verglichen und die von Holliger aufgestellten kritischen Unterscheidungsmerkmale gegenüber Bacterium coli näher auf ihre Berechtigung geprüft werden.

Tabelle I.

	Typus	Abweichungen einzelner Stämme
1. Aussehen unter dem Mikroskop.	Kurzstäbchen von 1,5—2 μ Länge, 0,4—0,6 μ Breite, häufig zu zweien beieinander. Auf zuckerhaltigen Nährböden und Kartoffel werden diese Mafse oft überschritten; es finden sich dort fast regelmäfsig Fäden verschiedenster Länge.	Häufig werden die Normalmafse nicht erreicht; zarte Formen (0,3—0,5 μ breit, 1—1,5 μ lang) zeigen IV, IX, X; kurze plumpe Ovalformen (3/4 μ breit, 1—1,5 μ lang) bei XIV und c. Lange Stäbchen (5 μ und mehr) finden sich bei I; vereinzelte lange Fäden bis zu 10—15 μ bei VII.
2. Eigenbewegung.	Die Bewegung ist im allgemeinen von mittlerer Geschwindigkeit; dabei meistens Ortsveränderung durch fischartige Lokomotion. Einzelne unbewegliche oder nur pendelnde Bewegungen ausführende Stäbchen sind fast stets vorhanden.	Allgemein trägere Bewegung als der Durchschnitt haben: a, b, c, XI, XIV. Allgemein lebhaftere Bewegung als der Durchschnitt haben: I, XII.
3. Färbbarkeit.	Nicht nach Gram.	—
4. Sauerstoffbedürfnis.	Fakultativ anaerob.	—

	Typus	Abweichungen einzelner Stämme
5. Feste Nährböden: a) Gelatine	Platten: Koliartig: Tiefe Kolonien rundlich bis wetzsteinförmig von gelbl. Farbe, oberflächliche weifs bis grauweifs, meist zart, irisierend.	Auflagerung besonders dick, grauweifs, nicht glänzend, mit steilen Rändern bei VIII, XI.
	Stich, Strich } wie Koli. Gelatine nicht verflüssigt.	Späte Verflüssigung der Gelatine bei den Stämmen c und VIII bis XIV.
b) Agar	Wie Koli.	—
c) Kartoffel.	Dicker, saftiger, grauweifslicher, später hellgelblicher bis hellbrauner Belag (koliartig).	Farbe des Belages etwas dunkler (gelblichbraun) bei b und V, sehr hell bei IV. Belag sehr üppig bei XIV.
6. Flüssige Nährböden: a) Bouillon	Starke Trübung, weifser Bodensatz, keine Deckenbildung.	Trübung mäfsig stark bei Stamm b, IV, VI, VII, IX, X. Deckenbildg. bei a, b, c, XIV.
b) Milch.	Feste Koagulation.	Gerinnung mit breiigem Koagulum bei c, I, II, IV; dickflüssig bei VI; keine sichtbare Gerinnung b. Stamm b.
7. Vergärung von Kohlehydraten: a) Dextrosebouill.	Gas- und Säurebildung.	—
b) Laktosebouillon.	Säurebildung.	Gasbildung bei a, c, V, VII, VIII, XII, XIII.
8. Indolbildung (10täg. Bouillonkultur.)	Mittelkräftige bis kräftige Indolreaktion.	Schwache Reaktion bei IX, sehr starke bei VI.

c) Wie unterscheidet sich unser Bacterium levans von dem Wolffinschen Typus?

Aus der Tabelle folgt, dafs sich etwa die Hälfte unserer Levansstämme, d. h. diejenigen, welche auch nach vielen Wochen Gelatine nicht verflüssigen, vom Bacterium levans, wie es Wolffin beschrieben hat, nur durch folgende Punkte unterscheidet:

1. Milchzuckervergärung: Von Wolffin vermifst, wurde Gasbildung aus Laktose von Holliger anscheinend stets

gefunden; dabei war die Laktosegärung immer schwächer als die Dextrosegärung und trat in der Regel auch später ein. Bei mir war die Gasbildung inkonstant. Von 17 Levansstämmen bildeten nur 7 (ca. 40%) im Gärkölbchen aus Laktosebouillon in unzweideutiger Menge Gas; auch bei mir war diese stets geringer als bei Dextrosegärung; einigemale trat die Milchzuckergärung verspätet doch noch auf. Von den übrigen 10 Stämmen bildeten 5 Gas in geringer Menge (0,5 ccm und weniger): Diese können jedoch, wie Holliger nachwies, auf Vergärung vorhandener Spuren von Dextrose bezogen werden und sind deshalb aufser Betracht geblieben. Auch bei Bacterium coli findet Gasbildung aus Milchzucker nicht konstant statt. Pfaundler[1]) gibt sie für 60% aller Darmkolistämme an.

2. Milchkoagulation. In der Einleitung wurde bereits erwähnt, dafs Wolffins Nachuntersucher Fränkel und Papasotiriu dieselbe stets positiv fanden. Sie sprachen die Vermutung aus, dafs für die negativen Befunde Wolffins vielleicht eine zu kurze Beobachtungsdauer verantwortlich gemacht werden könne. Meine Stämme koagulierten tatsächlich zum Teil erst nach 6—10 Tagen. Doch ist an dieser Stelle die interessante Tatsache zu erwähnen, dafs von den untersuchten 17 Levansstämmen allein der alte Wolffinsche, im Institut ca. 10 Jahre fortgezüchtete Stamm b auch bei mir keine Spur von Milchgerinnung bei 37° hervorrief, wie er auch in Milchzuckerbouillon keine Säure bildete (s. u.). Dafs diese Fähigkeit durch jahrelanges Kultivieren auf künstlichen Nährböden erst verloren gegangen ist — bei den ebenfalls lange fortgezüchteten Stämmen a und c ist sie erhalten geblieben — ist nicht unmöglich, wahrscheinlicher ist es aber, dafs wirklich Wolffin ein von Haus aus sehr langsam oder gar nicht koagulierender Stamm vorlag, wie er ihn ja beschrieben hat.

1) Th. Escherich und M. Pfaundler, Bacterium coli commune. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Kolle und Wassermann), 8. Lief., Jena, 1902.

3. Indolbildung. Von Wolffin vermifst, aber bereits von F. Fränkel und Papasotiriu stets gefunden. Letzterer weist darauf hin, dafs Wolffin sehr geringe Indolmengen, wie sie nach nur 2—3tägiger Beobachtungsdauer auch bei Fränkel oft da waren, möglicherweise durch die Art der Ausführung der Indolreaktion übersehen haben könne. Dafür spricht auch der Umstand, dafs Wolffins Originalstamm (b) mir deutliche Indolreaktion gab.[1])
4. Pigmentbildung. Wolffin beschreibt die Oberfläche der Agarkulturen als »gelblichen« Belag und spricht von einer »dunkelgelblichen« Kartoffeloberfläche. Solche Befunde gelblicher Pigmentbildung habe ich mit Holliger allerdings niemals gesehen, und es scheint in der Tat nicht ausgeschlossen, dafs Wolffin hierbei unbewufst Kulturen des »gelben Gasbildners« in der Hand gehabt hat. Doch ist es andrerseits bekannt, dafs auf der Kartoffelkultur Bact. coli ebenfalls gelbes Pigment bildet:

Lehmann und Neumann[2]): »erbsengelb bis gelblich-braun«,
Escherich » Pfaundler[3]): »erbsenpüreefarbig, endlich dunkelgelb, braun oder graubraun verfärbt«,
Günther[4]): »dunkelgelb, mais- bis erbsengelb«.

d) Wie unterscheidet sich unser „Bacterium levans" vom Bacterium coli commune, speziell in Hinsicht auf die Holligerschen Kriterien?

Zur vergleichenden Untersuchung mit den 17 Levansstämmen dienten drei Kolistämme a, b, c. Koli a stammte aus Wasser, b und c aus menschlichen Fäzes. Sie waren 2—4 Wochen

1) Inzwischen hat Herr Prof. Lehmann gelegentlich eine Beobachtung gemacht, welche eine neue Möglichkeit aufdeckt, wie Täuschungen über das Vorhandensein von Indol entstehen können. Eine schon sehr oft mit Erfolg benutzte Nitritlösung gab einem geübten Untersucher bei einem typischen Kolistamm aus Wasser ein negatives Resultat. Die genaue, von Herrn Prof. Lehmann vorgenommene Untersuchung zeigte nun, dafs die Lösung keine Spur mehr von Nitrit, aber reichlich Nitrat enthielt.

2) Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik, 1899.

3) Escherich und Pfaundler, a. a. O.

4) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie, 1898.

zuvor aus ihrem natürlichen Aufenthalt isoliert und in Agarstichkulturen der Sammlung des Hygienischen Instituts einverleibt worden. In ihrem Wachstum auf den verschiedenen Nährböden, in morphologischer Hinsicht und biologischen Leistungen entsprachen sie vollkommen den von Lehmann und Neumann für Koli aufgestellten Forderungen.

Folgende Punkte sind für die Unterscheidung zwischen levans und coli zu besprechen:

1. Eigenbewegung,
2. Plattenkolonien,
3. Gelatineverflüssigung,
4. Milchkoagulation,
5. Indolreaktion,
6. Säurebildung,
7. Gasbildung.

Alle andern Eigenschaften (Formverhältnisse, Sauerstoffbedürfnis, Färbbarkeit, Wachstum auf Agar, Kartoffel, Bouillon) kommen nach dem in der obigen Tabelle Angegebenen für die Unterscheidung von Koli nicht in Betracht.

1. Eigenbewegung.

Durch die Art und gröſsere Schnelligkeit der Eigenbewegung sind nach Holliger typische Levansstämme von typischen Koli mit Leichtigkeit zu unterscheiden.

Bei der Nachprüfung seiner Befunde habe ich es mir angelegen sein lassen, dieselben günstigen Versuchsbedingungen wie Holliger einzuhalten und habe deshalb wie er sämtliche Stämme als 16stündige (IV, V, VI und XIV als 18stündige), bei 30—31° C gehaltene Dextroseagarstichkulturen im hängenden Tropfen untersucht.

Es scheint mir zweckmäſsig, meine so erhobenen Befunde nach dem von Pfaundler[1]) für die bei Koli beobachteten Bewegungstypen vorgeschlagenen Schema zu registrieren, welches zugleich Schnelligkeit und Art der Bewegung berücksichtigt.

1) Th. Escherich und M. Pfaundler, a. a. O.

Tabelle II.

Untersuchung im hängenden Tropfen. 16—18 stündige Dextroseagarstichkulturen.

A. Oszillation und Pendelung ohne beträchtliche Ortsveränderung	B. coli: c, a B. levans: a, b B. levans: IV, VII, IX, X, XI, XIII		
B. Ortsverändernde Bewegung	B. coli: a, b B. levans: c B. levans: I, II, III, V, VI, VIII, XII, XIV	1. mit Drehung um eine Querachse (radschlagende, purzelbaumartige Lokomotion)	B. coli: (a) B. levans: (III), (V), (XIV)
		2. mit Drehung um die Längsachse od. ohne solche (fischartige Lokomotion)	B. coli: a, b B. levans: c B. levans: I, II, III, V, VI, VIII, XII, XIV

Die Einreihung in dieses Schema hat aber nur beschränkte Gültigkeit. Denn fast nie war der Typus der Bewegung in ein und demselben Tropfen ein einheitlicher. Es wurden vielmehr die einzelnen Stämme nach dem jedesmal vorherrschenden Typus registriert. Bei einzelnen war dies recht schwierig. Häufig z. B. war folgendes zu sehen: Einzelne Fäden und Stäbchen sind unbeweglich, einige weisen von der Brownschen Molekularbewegung sicher verschiedene, also aktive Oszillationen und kurze Bewegungen auf (A ob. Schema). Die Mehrzahl, zumeist kleinere bis mittelgrofse Individuen, bewegen sich fischartig schwimmend mit mittlerer Geschwindigkeit vorwärts (B 2); eine Anzahl, anscheinend meist kleine Individuen, schiefsen mit demselben Bewegungstypus pfeilschnell durch das Gesichtsfeld. Daneben findet sich wieder eine geringere Anzahl, welche sich mit vielen Abstufungen der Geschwindigkeit purzelnd vorwärts bewegen (B 1); ab und zu geschah diese Vorwärtsbewegung in kreisförmiger Bahn, so dafs gleichsam eine Art Erdbewegung um ein unsichtbares Sonnenzentrum resultierte. Ähnliches zeigten Koli b, Levans I, II, III, V, VI, VIII, welche sämtlich nach der am meisten vorherrschenden Bewegungsart der Gruppe B 2 zugeteilt wurden. — Oft mufsten zur Entscheidung mehrere Präparate einer Kultur geprüft werden. Aber selbst mit diesen Hilfsmitteln

konnte kein einheitlicher Typus bei einigen Stämmen aufgestellt werden, und dieselben mufsten doppelt aufgeführt werden (coli a, levans III, V, XIV); beim Colistamm a waren etwa gleich viele wandernde (A) und nicht wandernde (B) Formen vorhanden.

Als Grenzen der Bewegungsschnelligkeit seien hier nochmals genannt (vgl. Tabelle):

Allgemein träge Bewegung, verhältnismäfsig viele Stäbchen unbeweglich: coli c, levans a, b, c, XI, XIV. Allgemein lebhafte bis sehr lebhafte Bewegung: Coli b, Levans I, XII.

Es liegen also so viele Variationen der Eigenbewegung für coli und levans vor, dafs ich nach meinen Untersuchungen eine leichte und sichere Unterscheidung beider Arten durch Intensität und Art der Beweglichkeit nicht anerkennen kann. Auch die gleichartige Begeifselung, welche Holliger bei seinen Stämmen von levans und von coli peritrich fand, spricht gegen eine solche Scheidung.

Mir selbst ist es nicht gelungen, mit der von Hinterberger modifizierten van Ermengemschen Methode Geifselfärbungspräparate darzustellen, welche eine sichere Deutung des Geifseltypus zuliefsen. Aber selbst positive Befunde in dieser Richtung würden ja noch nicht eine Trennung der Arten gestatten; denn über Zahl und Anordnung der Geifseln bei Koli ist absolut noch keine Übereinstimmung der Autoren erreicht; es sind sogar monotriche Formen beschrieben.

2. Gelatineplattenkolonien.

Holliger gibt mit Bezug auf die Oberflächenkolonien von Levans an: »Im allgemeinen sind sie dicker, mit steil abfallendem Rand und oft, namentlich in vorgeschrittenem Alter, mit flacher, angelagerter Randzone versehen.«

Mir war es nicht möglich, aus dem Bilde der Gelatineplattenkulturen einen auch nur einigermafsen konstanten Unterschied zwischen Koli und Levans festzustellen. Den steil abfallenden Rand, welchen auch ich oftmals bei dicken Oberflächenkolonien von Levans sah, zeigte Koli a ebenfalls in ausgesprochener Weise. Auch in Form (Randzone!) und Glanz zeigten selbst Kolonien

ein und derselben Platte oft solche Verschiedenheiten, dafs weder für Koli noch für Levans ein charakteristisches Merkmal daraus zu entnehmen gewesen wäre. Dasselbe gilt für das mikroskopische Bild der Kolonien. Auch aus den Beschreibungen in Holligers tabellarischer Übersicht ist es mir nicht klar geworden, wie eine 3—4 tägige typische Levansplatte von einer gleich alten Koliplatte »mit Leichtigkeit« zu unterscheiden sein soll.

3. Verflüssigung der Gelatine.

Im Gegensatz zu Wolffin fand Holliger bei seinen sämtlichen Levansstämmen ausnahmslos eine frühestens nach 12—14 Tagen beginnende Verflüssigung der Gelatine.

Als ich anfing, Levans aus Sauerteig zu isolieren, machte auch ich die Beobachtung, dafs einige 4—6 Wochen bei Zimmertemperatur stehende Gelatinestichkulturen eine trichterförmige Einsenkung der Oberfläche aufwiesen. Es wurden deshalb von sämtlichen untersuchten Stämmen Gelatinestichkulturen bei 20° C. aufbewahrt und auf ihr Verflüssigungsvermögen beobachtet. Das Resultat zeigt die Tabelle auf S. 74.

Danach tritt in fast der Hälfte der untersuchten Fälle Verflüssigung der Gelatine ein. Dafs Wolffin diese nicht beobachtet hat, findet wohl genügende Erklärung in dem merkwürdig späten Auftreten des Phänomens: entweder er legte die Kulturen nach 2—3 Wochen aus der Hand oder er arbeitete eben mit noch später oder gar nicht verflüssigenden Stämmen (Wolffins Stamm b verflüssigt nicht), was um so leichter denkbar ist, als für ihn keine Ursache vorlag, eine gröfsere Reihe von Stämmen methodisch zu untersuchen.

Vergleicht man die Zeitangaben meiner Tabelle mit denen Holligers, so findet man zwar auch bei ihm Stämme, welche erst nach 19—22 Tagen verflüssigen; zwei Stämme lassen sogar die Gelatine über 1 resp. $1\frac{1}{2}$ Monate fest. Doch tritt im allgemeinen bei Holligers Stämmen die Verflüssigung etwas früher ein. Diese graduellen Verschiedenheiten sind möglicherweise durch kleine Verschiedenheiten der Versuchsanordnung (Beschaffenheit der Gelatine) zu erklären. Anderseits besteht die

Tabelle III. Gelatinestrichkulturen bei 20° C.

	14 Tage	21 Tage	26 Tage	4 Wochen	5 Wochen	6 Wochen
Coli a, b, c		**Keine Andeutung** von Verflüssigung (Beobachtung 2 1/2 Monate).				
Levans a, b (Wolffin)	**Wie Koli**	(Beobachtung 2 1/2 Monate.) 1)				
Levans c	—	—	—	—	Deutl. Verflüss. im unteren Teil des Impfstrichs.	—
Levans I—VII	Wie Koli	(Beobachtung 2 1/2 Monate.) 1)				
Levans VIII	—	—	Einsinken d. dicken Impfstrichs.	—	Deutliche Flüssigkeitsschicht der Gelatine, auf deren Oberfläche der Kulturrasen schwimmt.	
Levans IX	—	—	—	Beginnende Verflüssigung.	—	Verflüssigung schreitet sehr langsam fort.
Levans X	—	Leichte Einsenkung des unteren Strichrandes.	Rutschen des Impfstrichs auf d. Unterlage.	—	—	Verflüssigung von über der Hälfte des Nährbodens.
Levans XI	In der Mitte ist der Impfstrich eingesunken u. beginnt die Unterlage zu verflüssigen.	Die Verflüssigung schreitet kaum fort.	Jetzt erst deutliches Rutschen des Impfstrichs und eine sehr kleinen Schicht flüssiger Gelatine.	—	Flüssigkeitsschicht ist 2 cm hoch.	Verflüssigung von zwei Dritteln d. Nährbodens.
Levans XII	—	—	—	—	—	Seit 2 Tagen beginnende Verflüssigung.
Levans XIII	—	—	—	—	Seit 3 Tg. beginn. Verflüssigung.	Über ein Drittel der Gelatine verflüssigt.
Levans XIV	—	—	—	—	Verflüssigung eben beginnend.	Sehr langs. Fortschreit. (Nach 9 Wochen erst ein Drittel des Nährbodens verflüssigt.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Auch jetzt, nach 7 Monaten, haben die Kulturen Levans a und b sowie Levans I bis VII nicht verflüssigt, die Gelatine ist kelchförmig vertrocknet, dagegen ist die Gelatine durch Levans c, Levans VIII bis XIII ganz flüssig geworden, das Aussehen der Kultur von Levans XIV ist etwa stehen geblieben, es ist sogar die geringe Gelatineverflüssigung durch Wasserverdunstung wieder verschwunden. (K. B. Lehmann.)

wichtige Tatsache, dafs über die Hälfte der von mir untersuchten Stämme auch nach $2^1/_2$ und 7 Monaten[1]) keine Andeutung von Verflüssigung zeigte, also offenbar proteolytisches Ferment nicht bildete.

4. Milchkoagulation.

Zu den Versuchen wurde überall die gleiche sterilisierte Magermilch verwendet und nach der Impfung im Brutschrank gehalten. Ungeimpfte Kontrollröhrchen koagulierten nicht.

Tabelle IV.

	Verhalten bei 37° C
Coli a	Nach 7 Tagen Gerinnung mit breiigem Koagulum.
Coli { b, c	Schon nach 36 Stunden feste Gerinnung mit einer geringen Deckschicht wasserhellen Serums.
Levans a	Genau wie coli b und c (nach 36 Stunden geronnen).
Levans b (Wolffin)	Es erfolgte weder Koagulation noch sonst eine wahrnehmbare physikalische Veränderung der mäfsig stark gesäuerten Milch.
Levans c	Nach 4 Tagen Gerinnung mit breiigem Koagulum.
Levans I	Erst nach 10 Tagen Gerinnung mit breiigem Koagulum.
Levans II	Nach 3 Tagen Gerinnung mit breiigem Koagulum.
Levans III	Erst nach 10 Tagen feste Gerinnung.
Levans IV	Nach 7 Tagen teilweise Gerinnung zu einer teils breiigen, teils dickflüssigen Masse.
Levans V	Schon nach 2 Tagen feste Gerinnung.
Levans VI	Nach 6 Tagen ist die Milch etwas dickflüssig; zu einer eigentlichen Gerinnung kommt es nicht. Starke Säuerung.
Levans VII	Nach 5 Tagen fest geronnen.
Levans VIII	Nach 4 Tagen
Levans IX	» 3 »
Levans X	» 5 »
Levans XI	» 5 » } mit festem Koagulum geronnen.
Levans XII	» 4 »
Levans XIII	» 4 »
Levans XIV	» 2 »

Das auffallende Verhalten von Wolffins Originalstamm Levans b ist oben schon besprochen.

Die Unterschiede in der Intensität und Schnelligkeit der Gerinnung sind bei den einzelnen Stämmen erheblich und gelten für Levans und für Koli. Dabei fällt jedoch bei einem Blick auf die Tabelle die Tatsache auf, dafs sämtliche später verflüssigenden

Levansstämme mit einziger Ausnahme des alten Stammes c die Milch fest und verhältnismäfsig schnell (in 2—5 Tagen) koagulieren.

Ebensowenig wie durch das Verhalten in steriler Milch lassen sich Koli und Levans durch den Ausfall der

5. Indolreaktion

voneinander trennen. Die Prüfung auf diese wurde mit 10 tägigen, bei 37° C gehaltenen Bouillonkulturen vorgenommen und ergab stets ein positives, nur Intensitätsunterschiede aufweisendes Resultat, analog den Befunden Fränkels, Papasotirius und Holligers.

Tabelle V.

Coli a	Mittelstarke Reaktion.
Coli b, c	Sehr intensive, momentan und schon in der Kälte auftretende Reaktion.
Levans a, b, c	Mäfsige Reaktion, bei c am schwächsten.
Levans I—XIV	Im allgemeinen ziemlich gleichmäfsige, nicht momentan auftretende, mittelstarke Reaktion. Ausnahmen: Stamm IX: schwache, Stamm VI: momentane, sehr kräftige Reaktion.

6. Säurebildung aus Kohlehydraten.

Die Frage der Säurebildung durch Bact. levans ist bereits von Wolffin quantitativ und qualitativ studiert worden. Wolffin fand in 10 ccm einer infizierten 1 proz. Zuckerbouillon eine Säuremenge, welche durch 4,0 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge neutralisiert wurde. Die qualitative Analyse ergab Bildung von Essigsäure und Milchsäure im Verhältnis von 4 : 1, während Ameisensäure und Buttersäure nicht nachgewiesen wurden.

Holliger hat die Säurebildung durch Levans nicht untersucht, wohl weil er sie für absolut unbeteiligt an der Säuerung des Teiges hält. Für mich war es bei der vergleichenden Untersuchung einmal von Interesse zu prüfen, ob Levans in der Säureproduktion quantitativ hinter Koli zurückstände; zweitens war die absolute Säurebildung der einzelnen Stämme von Interesse zur Entscheidung der Frage ob und wieweit die Teigsäure auf Bact. levans bezogen werden darf.

Die Prüfung geschah an Zuckerbouillonkulturen, welche bei 37° C standen, und wurde nach je 2 und 5 Tagen vorgenommen; eine noch später ausgeführte Untersuchung ergab fast stets denselben oder bereits einen niederen Säuregrad; in einigen Fällen (Levans b, II, VII, XIII) war schon nach 5 Tagen der höchste Aciditätspunkt überschritten, während anderseits bei Milchzuckervergärung oft eine nachträgliche Säurebildung auffiel.

Es wurden je 3 ccm Kultur mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge (Indikator Phenolphthalein) titriert. Von den so erhaltenen Säurewerten mufste zur Bestimmung der wirklich gebildeten Säuremenge die Zahl subtrahiert werden, welche den Säuregrad der nicht infizierten Zuckerbouillon darstellt; dieselbe betrug für 3 ccm unserer Traubenzuckerbouillon 0,3, der Milchzuckerbouillon 0,2.

Tabelle VI.

Säurewerte für 3 ccm Zuckerbouillonkultur in ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

	1 proz. Dextrosebouillon		1 proz. Laktosebouillon	
	nach 2 Tagen	nach 5 Tagen	nach 2 Tagen	nach 5 Tagen
Coli a	0,5	0,8	0,9	0,9
» b	0,8	0,9	1,1	1,1
» c	0,7	0,8	0,9	1,1
Levans a	0,7	1,0	1,0	1,0
» b (Wolffin)	0,7	0,6	—	—
» c	0,4	0,6	0,9	1,2
Levans I	0,8	1,1	0,1	0,8
» II	0,7	0,6	0,5	0,9
» III	0,9	1,1	0,7	1,1
» IV	0,5	0,6	0,2	0,8
» V	0,8	0,8	0,7	0,9
» VI	1,0	1,1	0,1	0,1
» VII	0,8	0,5	0,5	1,0
» VIII	0,8	0,9	1,0	1,8
» IX	0,7	0,9	0,7	0,8
» X	0,8	—	—	0,8
» XI	0,4	0,5	0,2	0,6
» XII	0,7	0,7	0,8	1,3
» XIII	0,9	0,5	—	0,8
» XIV	0,6	0,6	0,6	0,8

Aus der Übersicht geht hervor, daſs sich Levans im allgemeinen nicht wesentlich von Koli unterscheidet. Die Säuremengen entsprechen den von Wolffin (s. o.) und B. Wolff[1]) für Levans gefundenen.

Säurebildung aus Milchzucker fehlt bei Wolffins Stamm b und ist zweifelhaft bei Levans VI; dementsprechend war die Milchkoagulation negativ (s. o.).

7. Gasbildung aus Kohlehydraten.

Während, wie wir oben sahen, nur ca. 40% unserer Levansstämme Milchzucker unter Gasbildung vergoren, war dies bei Traubenzuckernährböden stets der Fall.

Dextroseagarschüttelkulturen wiesen nach 24 Stunden bei allen Stämmen reichliche Gasbildung ohne merklichen Unterschied der Intensität bei Levans und Koli auf.

Es wurde nun eine Versuchsreihe mit Gärkölbchen zur Feststellung der Mengenverhältnisse der gebildeten Gase angestellt. Ich bediente mich dabei derselben einfachen Methode, welche bereits von Erwin Smith und Wolffin (von letzterem allerdings neben exakten Gasanalysen nach Hempel) angewendet und von Holliger mit gutem Erfolge akzeptiert wurde. Füllt man nach beendeter Gärung den offenen Schenkel des Kölbchens mit Kalioder Natronlauge, schlieſst die Öffnung mit dem Finger und schüttelt kräftig, so absorbiert die Lauge einen Teil des Gasgemisches, die Kohlensäure. Wenn man den Gasrest wieder in die geschlossene Röhre zurückbefördert, so daſs in der Kugel sich keine Gasblase mehr befindet, und nun den Finger entfernt, so steigt die Flüssigkeit in der Röhre je nach dem Grade der CO_2-Absorption. Die nun übrig gebliebene Gasmenge, der Hauptsache nach aus Wasserstoff bestehend, kann abgelesen und mit dem ursprünglichen Gesamtgasvolum verglichen werden.

Bei Untersuchungen mit dieser nur Annäherungswerte liefernden Methode fand Wolffin, daſs bei Levans etwas mehr als die Hälfte der Gesamtgasmenge absorbiert wird und demnach

1) B. Wolff, Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Schrotmehls und der Schrotmehlgärung. Inaug.-Dissert., Würzburg, 1894.

CO_2 ist. Bei den genauen gasanalytischen Untersuchungen erhielt er:

In 1proz. Zuckerbouillon:

%	1.	2.	3.
CO_2:	689,	66,8	63,7
H:	25,4	28,7	31,8
N:	5,7	4,5	4,5.

Ganz ähnliche Zahlen fand er bei Vergärung von Bierwürze und verdünnter Würze.

In einfachen Zahlen war also bei Wolffin das Gasverhältnis $CO_2 : H_2$

für Levans 3 : 1 bis 2 : 1; dagegen

für Koli umgekehrt etwa: 1 : 3, wie es ähnlich auch sonst meist angegeben wird.

Holliger konnte für seine Stämme diesen Unterschied zwischen Levans und Koli bestätigen. Er erhielt mit der einfachen Schüttelmethode in schönster Konstanz das Verhältnis der Kohlensäure zum nicht absorbierten Gasvolum ($= H_2$)

für Levans: 2 : 1

für Koli 1 : 2.

Die Untersuchung meiner Stämme hatte das in Tabelle VII S. 80 angegebene Resultat.

Während also bei meinen Stämmen das Gasverhältnis von Koli dem in der Literatur angegebenen (s. v.) entspricht, war es bei Levans inkonstant, indem das Verhältnis $CO_2 : H_2$ fünfmal etwa gleich 1 : 1, fünfmal gröfser, siebenmal kleiner als 1 war. —

Wolffin glaubte auf die Verschiedenheit des bei der Gärung entstehenden Gasverhältnisses kein allzugrofses Gewicht für die Differentialdiagnose legen zu dürfen mit dem Hinweis auf Angaben in der Literatur, nach welchen die prozentuale Zusammensetzung der Gase wechsle. Dagegen legt Holliger auf diese Verhältnisse grofsen Nachdruck und spricht von einem wesentlichen Unterschied zwischen Koli und Levans.

Tabelle VII.

	Gebildete Gasmenge nach 1 Tag	Gebildete Gasmenge nach 2 Tagen	Durch 10% NaOH absorbierte Gasmenge (CO_2)	Ungefähres Verhältnis der durch NaOH absorbierten zur nicht absorbierten Gasmenge (H_2)
Coli a	3,9	4,2	1,1	1:3
» b		2,8	0,7	1:3
» c		3,2	1,1	1:2
Levans a		3,8	1,0	1:3
» b		2,7	1,4	1:1
» c		8,8	5,2	3:2
Levans I	2,8	4,1	1,1	1:3
» II	1,2	1,6	0,4	1:3
» III	3,1	3,7	1,1	1:2
» IV	2,0	2,3	0,7	1:2
» V	2,0	2,0	0,6	1:2
» VI	3,0	4,0	1,5	1:2
» VII		7,1	3,6	1:1
» VIII	2,3	5,2	2,7	1:1
» IX	1,2	1,5	0,7	1:1
» X	2,5	6,2	3,3	1:1
» XI	1,5	6,1	3,5	3:2
» XII	6,6	7,2	4,3	3:2
» XIII	2,4	6,2	3,7	3:2
» XIV	4,4	7,4	4,8	2:1

8. Schlufsfolgerungen.

Betrachten wir nun an der Hand der obigen Gegenüberstellungen die von Holliger formulierten Unterscheidungsmerkmale zwischen Koli und Levans und fragen, ob sie zur Speziestrennung ausreichen, so müssen wir diese Frage verneinen; denn

1. in der Art der Eigenbewegung konnten wir keinen durchgreifenden Unterschied zwischen Koli und Levans konstatieren.
2. Die Verflüssigung der Gelatine ist kein konstanter Befund, sondern findet sich nur in etwa der Hälfte unserer aus Teig isolierten Stämme.
3. Das Verhältnis von CO_2 zu H_2 bei der Zuckergärung ist nur bei einem Teil unserer Stämme

umgekehrt wie bei Koli, in einem gröfseren koliähnlich.

Wenngleich wir nun aber die Hollingerschen Differenzkriterien in ihrer absoluten Form für die Gesamtheit unserer Fälle als nicht zutreffend bezeichnen durften, so drängt sich doch anderseits die Frage auf, ob wir nicht einen Teil unserer »Levans«-stämme, nämlich die, welche die Holligerschen Levansmerkmale aufweisen, von den übrigen trennen müssen.

Es scheint dies bei näherem Zusehen berechtigt zu sein. Ein Blick auf unsere Gastabelle lehrt nämlich die Tatsache, dafs Koli und die nicht verflüssigenden Levansstämme (a, b, I—VII) das Gasverhältnis $CO_2 : H_2$ wie 1 : 1 bis 1 : 3 oder CO_2 unter der Hälfte der Gesamtgasmenge, die verflüssigenden Levansstämme (c, VIII—XIV) dagegen 1 : 1 bis 2 : 1, oder CO_2 über der Hälfte der Gesamtgasmenge aufweisen.

Wir können demnach zwei verschiedene »Levans«-Typen unterscheiden:

Bacterium levans α: identisch mit Bacterium coli commune:
nicht verflüssigend, Gasverhältnis $CO_2 : H_2 = 1 : 3$ bis $1 : 1$.

Bacterium levans β Typus Holliger:
verflüssigend, Gasverhältnis $CO_2 : H_2 = 1 : 1$ bis $2 : 1$.

Gegen eine solche Scheidung ist jedoch folgendes einzuwenden:

1. Wie aus der letzten Kolumne der Gastabelle (5) hervorgeht, ist bei unsern Stämmen der Unterschied in dem Verhältnis $\frac{CO_2}{H_2}$ zwischen Typus α und β, d. h. zwischen Bacterium coli und levans (Holliger) kein strenger, sondern wir finden eine kontinuierliche Reihe mit allmählichem Übergang. Typus α beginnt mit 1 : 3, 1 : 2 und hat zwei Vertreter mit 1 : 1; hieran schliefsen sich drei Stämme des Typus β mit ebenfalls 1 : 1, dann folgt 3 : 2 und schliefslich der gröfste Wert 2 : 1.

Es gibt also Formen, welche verflüssigen und dasselbe mittlere Gasverhältnis (1 : 1) wie nicht verflüssigende haben.

Danach ist auf das erwähnte Gasverhältnis als scheidendes Moment kein übergroſses Gewicht zu legen. Dasselbe hat bereits Wolffin auf Grund von Literaturangaben über wechselndes Gasverhältnis bei Koli betont.

2. Trennt die Verflüssigung der Gelatine den Typus β scharf von Koli? — Beim Studium der mehrfach erwähnten Monographie von Escherich und Pfaundler habe ich folgende Ausführungen gefunden, welche jüngste, für die Frage der Proteolyse durch Bacterium coli bedeutungsvolle Forschungen von Finizio betreffen:

Neben einem »Protein mit »Albumosennatur« wurde von Finizio im Milchserum nach Gerinnung durch Koli auch ein Körper mit den Reaktionen der Peptone nachgewiesen, der in der nativen Milch nicht enthalten ist. Ähnliche Eiweiſsspaltungsprodukte werden auch in Kulturen von Bacterium coli auf (zuckerfreier) Aszitesflüssigkeit gebildet; es erscheint daher nicht wohl annehmbar, daſs die Kolisäuerung der Milch als solche die besagte Proteolyse bewirke. Dieselbe muſs nach weiteren Untersuchungen Finizios der direkten Einwirkung der Mikroben, nicht etwa ausgeschiedener Fermenten zugeschrieben werden.«

Sofern sich diese Befunde von Finizio bestätigen, wird die landläufige These von der Unangreifbarkeit nativer Eiweiſskörper durch Bacterium coli vielleicht eine Einschränkung betreffend das Kasein erleiden müssen. Ist also auch bisher nicht direkt Gelatineverflüssigung durch Bacterium coli angegeben, so wird doch gezeigt, daſs eine Spaltung von Milch- und Aszites. eiweiſs durch Koli stattfindet, und es muſs mit der Möglichkeit gerechnet werden, daſs auch typische Kolistämme mit mehr oder weniger manifester proteolytischer Wirkung gefunden werden.

Ähnliche Beweise für proteolytische Wirkungen des Bacterium coli hat Dieudonné gegeben. Er zeigte (Verh. d. würzb. ph.-m. Gesell.), daſs zwar nicht natives, aber wohl ein durch geringes Er-

hitzen präpariertes, denaturiertes Serum von Bacterium coli in charakteristischer Weise verändert werde. Auf Zusatz von etwas Säure zeigt das von Bacterium coli angegriffene denaturierte Serum starke Niederschläge, welche im Kontrollserum und in dem beimpften nicht denaturierten fehlen. — Soeben teilt Treutlein aus der Leubeschen Klinik mit, dafs Bacterium coli beim Aufbewahren die Harnzylinder im Harn angreife. (M. m. W. 1903 Nr. 35).

Aufserdem darf ich erinnern, dafs z. B. Streptoc. und lanceolerus pyogenes gelegentlich mit Gelatineverflüssigung gefunden werden.

3. Auch mufs ich hervorheben, dafs gerade die verflüssigenden Stämme durch stärkere Milchkoagulation dem gewöhnlichen Kolitypus eher näher zu stehen scheinen als die von Wolffin und mir aus Teig isolierten nicht verflüssigenden (vgl. ob. Tabelle). Nun ist ja allerdings bekannt, dafs bei der Intensität der Milchgerinnung verschiedene Faktoren mitwirken; so hat neuerdings Silberschmidt[1]) den Einflufs verschiedengradiger Erwärmung bei der Sterilisation u. a. auch auf die Koli-Gerinnung nachgewiesen, ein Faktor, der bei meiner Versuchsreihe übrigens nicht in Betracht kommt, da alle Milchröhrchen gleichzeitig sterilisiert wurden. — Inwieweit man, wie Finizio ebenfalls bewiesen haben will, vielleicht annehmen darf, dafs bei der Milchkoagulation durch Koli ein labartiges Ferment mitwirkt, dessen Bildung dann parallel mit der Bildung eines eiweifslösenden Fermentes stiege, sind Fragen, welche ich nicht weiter diskutieren möchte. — Doch sei noch erwähnt, dafs zwar fehlende Milchkoagulation und fehlende Laktosebouillonsäuerung einander entsprachen, im übrigen aber die verflüssigenden und Milch stärker koagulierenden Stämme in Laktosebouillon nicht mehr Säure als die andern bildeten.

Aus den angeführten Gründen erscheint es bedenklich, eine scharfe Scheidung der zwei besagten Typen durchzuführen. Anderseits hat die Verflüssigung der Gelatine bisher noch als unvereinbar mit dem Begriff »Bacterium coli commune« selbst bei einer weitgefafsten Artcharakteristik gegolten.

1) W. Silberschmidt, Über den Einflufs der Erwärmung auf die Gerinnung der Kuhmilch. Deutsche med. Wochenschr, 1903, Nr. 27.

Um eine klare Bezeichnung der verschiedenen Stämme zu haben und den von Wolffin und Holliger recht verschieden definierten Begriff Bacterium levans zu beseitigen, schlagen wir — Herr Prof. Lehmann und ich — vor zu nennen:

1. Die nichtverflüssigende Form aus Milch und Teig mit dem Gasverhältnis 1 : 3 bis 1 : 1 Bacterium coli;
2. die langsam verflüssigende weifswachsende Form aus Mehl und Teig mit dem Gasverhältnis 1 : 1 bis 2 : 1 : Bacterium coli var. albidoliquefaciens Lehmann und Levy.

Im folgenden werde ich 1 und 2 zusammen nach dem Vorgange Holligers die »Weifsen Gasbildner« nennen.

Es hatte Papasotiriu vollkommen recht, die Identität zahlreicher Mehlteigbakterien mit Bacterium coli auszusprechen, und dem Nachweis von vereinzelten Kolonien von Bacterium coli im Trinkwasser, wie er durch Vorkultur sehr leicht gelingt, eine Bedeutung als Indikator für Wasserverunreinigung abzusprechen. Anders liegt die Sache, wenn die direkte Plattenkultur eine gröfsere Zahl von Kolikolonien ergibt — hier ist natürlich die Möglichkeit einer Fäkalverunreinigung ernster ins Auge zu fassen.

II. Andere gas- und säurebildende Bakterien im gärenden Teig.

a) Gelber Gasbildner und gelber Säurebildner.

»In spontan gärenden Teigen ist als Gärungserreger neben dem koli-ähnlichen Bacterium levans regelmäfsig und meist in gröfserer Menge als letzteres ein die Gelatine verflüssigendes, fakultativ anaerobes, nicht sporenbildendes, in ausgesprochen gelben Kolonien wachsendes, Trauben- und Milchzucker vergärendes Kurzstäbchen tätig.«

Mit diesen Worten fafst Holliger kurz die Eigenschaften des von ihm neben Levans als Gärungserreger gefundenen Spaltpilzes zusammen, den er vorläufig unbenannt läfst und schlechthin als »gelben Gasbildner« bezeichnet.

Bereits oben wurde erwähnt, dafs auch ich den gelben Gasbildner aus einer Reihe von Mehlteigen züchten konnte. Daneben

aber fand ich ziemlich häufig noch ein zweites, gelbe Kolonien auf der Gelatineplatte bildendes Kurzstäbchen, welches sich vom gelben Gasbildner durch den Mangel der Gasbildung bei vorhandener Säurebildung sowie durch einige andere Wachstumserscheinungen trennen läfst; dieses Stäbchen sei einstweilen mit dem nichts präjudizierenden Namen »gelber Säurebildner« bezeichnet.

Von beiden gelben Stäbchen wurde eine Anzahl Stämme isoliert und genau so wie oben von den weifsen Gasbildnern beschrieben und gleichzeitig mit diesen nach den üblichen Gesichtspunkten untersucht.

Vom gelben Gasbildner wurden 5 Stämme untersucht. Stamm I und II waren von mir mittels Vorkultur in Traubenzuckerbouillon aus 2 verschiedenen Sauerteigen isoliert, III, IV, V waren teils mittels Vorkultur, teils mit direkten Platten aus mit Sauerteig hergestelltem Mehlteig von Herrn Dr. Armand gezüchtet, dem ich für die gütige Überlassung dieser wie der von ihm isolierten Koli- und Levansstämme zu grofsem Dank verpflichtet bin.

Vom gelben Säurebildner wurden 6 Stämme geprüft, von denen I—V von mir, VI von Herrn Dr. Armand, teils direkt, teils durch Vorkultur aus gärendem Sauerteigmehlbrei gezüchtet waren.

Sämtliche 11 Stämme wurden sogleich nach ihrer Isolierung aus dem natürlichen Nährboden untersucht.

Da alle Stämme der zwei Arten unter sich sehr gut übereinstimmten, so genügt es, in tabellarischer Form eine Beschreibung der beiden, kurz als α und β unterschiedenen Gelben vergleichend einander gegenüberzustellen. Daran würde sich die Frage nach dem Verhältnis beider zu Bacterium levans und Bacterium coli anzuschliefsen haben.

Tabelle VIII.

b) Tabellarische Übersicht der beiden gelben Arten.

	α) Gelber Gasbildner	β) Gelber Säurebildner
1. Mikroskopisches Aussehen.	Kurzstäbchen, an den Ecken meist deutlich abgerundet; 1,5—2 μ lang, 0,5 μ breit. Häufig Doppelstäbchen, Fäden von 5—10 μ, manchmal von 20 μ Länge.	Kurzstäbchen fast durchweg etwas kleiner als α, 1—1,5 μ lang, 0,3—0,5 μ breit. Fadenbildung ist seltener.

	α) Gelber Gasbildner	β) Gelber Säurebildner
2. Eigenbewegung.	Dieselbe ist stets vorhanden, meist lebhaft bis sehr lebhaft.	Wie α.
3. Färbbarkeit.	Nicht nach Gram.	Wie α.
4. Sauerstoffbedürfnis.	Fakultativ anaerob.	Wie α.
5. Feste Nährböden. a) Gelatine.	Platten: Oberflächenkolonien anfangs koliähnlich weifsl., doch rund begrenzt; später gelb mit etwas hellerer Randzone. Tiefe Kolonien gelb, bei 70 facher Vergröfserung gelbbraun, kompakter als coli. Stich und Strich: Oberfläche färbt sich allmählich intensiv gelb. Verflüssigung nach 7 bis 14 Tagen.	Platten: Oberflächenkolonien goldgelb, erhaben, mit unregelmäfsig gebuchtetem Rand. Bei 70 facher Vergröfserung tiefe Kolonien grob gekörnt, Zentrum dunkelbraun, Peripherie braungelb. Stich und Strich: Gelbfärbung d. Oberfläche ähnlich α, tritt jedoch schneller ein. Verflüssigung nach 3 bis 5 Tagen. (Ausnahme: Stamm IV nach 10 Tagen.)
b) Agar.	Oberfläche erst koliartig weifs, später langsam zunehmend hellgelb.	Oberfläche erst hellgelb, später intensiv goldgelb.
c) Kartoffel.	Intensiv goldgelber, saftig glänzend., auf d. Seitenränder übergreifender, üppig. Belag.	Wie α.
6. Flüssige Nährböden. a) Bouillon.	Mittelstarke Trübung, gelblich-weifser Bodensatz. Deckenbildung.	Schwache Trübung, kein deutlicher oder sehr geringer gelblicher Bodensatz. Keine oder sehr geringe Deckenbildung.
b) Zuckerbouillon.	Sehr starke Trübung, dicker gelblicher Bodensatz. Deckenbildung.	Mäfsige bis mittelstarke Trübung, gering. Bodensatz, keine od. sehr geringe Deckenbildg.
c) Milch.	Koaguliert nach 4—6 Tagen; Oberfläche erst weifs, später gelblich.	Koaguliert nach 3—5 Tagen; Oberfläche intensiv gelb gefärbt.
7. Vergärung v. Kohlehydraten a) Dextrosebouill.	Gas- und Säurebildung.	Keine Gasbildung. Säurebildung.
b) Laktosebouillon.	Gas- und Säurebildung.	Nicht vergohren.
8. Indolreaktion (10täg. Bouillonkultur).	Positiv.	Wie α.

Aus der in der Tabelle gegebenen Beschreibung des gelben Stäbchens α geht mit Sicherheit hervor, dafs es identisch mit dem von Holliger beschriebenen gelben Organismus ist, dessen provisorischer Name »gelber Gasbildner« deshalb mit Recht bereits eingesetzt ist. Alle Kulturmerkmale und chemischen Leistungen des Holligerschen Gelben habe ich bei meinem gelben Gasbildner analog wiedergefunden.

c) Wie unterscheiden sich die beiden gelben Arten untereinander und vom Bacterium coli albidoliquefaciens?

In mikroskopischem Aussehen, Färbbarkeit, Sauerstoffbedürfnis läfst sich der gelbe Gasbildner nicht vom Bacterium coli albidoliquefaciens unterscheiden. Auch die Eigenbewegung, welche im allgemeinen recht lebhaft gefunden wurde, entspricht derjenigen von Holligers und von vielen meiner Albidoliquefaciensstämme. Ebenso läfst sich im Ausfall der Indolreaktion, welche bald etwas stärker, bald schwächer stets aber positiv war, kein Unterschied vom Albidoliquefacienstypus feststellen.

Der »gelbe Säurebildner« verhält sich in allem analog; die im allgemeinen anscheinend etwas zartere Form der Stäbchen dürfte als striktes Unterscheidungsmerkmal nicht in Betracht kommen.

Zur Differentialdiagnose sind folgende Punkte kurz zu erörtern:

1. Bau der Plattenkolonien und Farbstoffbildung auf verschiedenen Nährböden;
2. Intensität des Gelatineverflüssigungsvermögens;
3. Verhalten in flüssigen Nährböden;
4. Säurebildung } bei Zuckervergärung.
5. Gasbildung }

1. Plattenkolonien und Farbstoffbildung auf verschiedenen Nährböden.

Während 1—2 Tage alte Oberflächenkolonien (Gelatineplatte) des gelben Gasbildners kaum von solchen von Bacterium coli und Var. albidoliquefaciens zu unterscheiden sind, ist dies am dritten Tage meist durch ihre Form möglich, welche rundlich begrenzt

bleibt, während gleich alte Levanskolonien bereits die Tendenz zur Ausbreitung zu einer unregelmäfsig gelappten Form erkennen lassen. Augenfälliger wird der Unterschied beider Arten durch die am dritten bis vierten Tage bereits meist deutlich werdende gelbe Färbung, welche am fünften Tage schon bei flüchtigerem Hinsehen die Unterscheidung ermöglicht. Die tiefen Kolonien sind unsicherer zu unterscheiden.

Noch weiter vom Kolitypus entfernt sich der Gelbe β, dessen Kolonien von Anfang an deutlich gelb erscheinen und bald eine saftig glänzende goldgelbe Farbe aufweisen; dabei sehen sie mikroskopisch dunkler als entsprechende α-Kolonien und gröber granuliert aus.

Deutlicher zeigen sich die Grade der Farbstoffbildung beider Gelber auf Gelatinestich- und -strich-, Agar und Kartoffelkulturen. Folgende etwas schematische Übersicht mag genügen:

Tabelle IX.

Farbstoffbildung nach Tagen:		2—3	4—5	6—8	14—21
Gelatine-strich-kultur	α) G. Gasbildner	lehmfarben bis rahmig-gelb		glänzend goldgelb	
	β) G. Säurebildner	rahmiggelb mattgelb	glänzend goldgelb		
Agar-stich-kultur	α) G. Gasbildner	weifs		crêmefarben bis mattgelb	definitives stumpfes, schmutzig-helles Gelb
	β) G. Säurebildner	mattgelb bis hellgelb		tief goldgelb	
Kartoffel-kultur	α) G. Gasbildner β) G. Säurebildner	saftig glänzend, intensiv goldgelb			

Am intensivsten war also die Farbstoffbildung beim gelben Gasbildner auf der Kartoffelkultur; langsamer war sie auf Gelatine, am langsamsten und schwächsten auf Agar.

Der gelbe Säurebildner verhielt sich auf der Kartoffel gleich, auf der Gelatine übertraf er den Gasbildner an Schnelligkeit, auf Agar an Schnelligkeit und Intensität der Pigmentbildung.

Hier gelangt Stäbchen α, im Anfang von Albidoliquefaciens nicht recht zu unterscheiden, erst nach ca. 3 Wochen allmählich zu einem deutlichen, stumpfen, immer noch hellen Gelb, aber überhaupt nicht (Beobachtung $2^1/_2$ Monate) zu der tiefen Nuance des »goldgelb«, welche der sofort deutlich gelb wachsende »gelbe Säurebildner« schon nach ca. 1 Woche erreicht.

In Anschlufs sei kurz das Verhalten der

Milchkulturen

besprochen, bei welchen sich ebenfalls die Pigmentbildung beider Arten entsprechend bemerkbar macht. Die Oberfläche der geronnenen Milch färbte sich beim gelben Gasbildner 4—5 Tage nach erfolgter Gerinnung stets deutlich gelb, was bei Albidoliquefaciens nie beobachtet wurde.

Der gelbe Säurebildner bildete den Farbstoff entsprechend seinem Verhalten auf Gelatine und Agar schneller und intensiver, und zwar in 5 von 6 Fällen zugleich mit der Gerinnung (intensiv goldgelbe Farbe der Oberfläche des Koagulums); nur bei Stamm IV trat die gelbe Verfärbung erst nach einigen Tagen auf.

Die Koagulation selbst fand im allgemeinen ähnlich wie bei B. coli und Albidoliquefaciens nach der in der folgenden Kolonne angegebenen Anzahl von Tagen statt:

Tabelle X.

Stamm	I	II	III	IV	V	VI
α) Gelber Gasbildner	5	6	4	5	4	
β) Gelber Säurebildner . . .	4	3	4	5	5	5

Die Gerinnung war stets fest mit Ausnahme von α II und β II, VI, welche ein breiiges Koagulum lieferten. Die

2. Verflüssigung der Gelatine

trat bei beiden Gelben im allgemeinen etwa gleichzeitig mit dem Erreichen der tiefsten Farbtönung ein. Sie begann nach der in den Kolonnen angegebenen Zahl von Tagen:

Tabelle XI.

Stamm	I	II	III	IV	V	VI
α) Gelber Gasbildner . . .	13	12	8	7	8—11 (?)	
β) Gelber Säurebildner . .	3	5	5	10	5	4

Die entsprechenden Zahlen für Bact. coli albidoliquefaciens sind (s. o.):

Tabelle XII.

Stamm	c	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
nach Tagen . .	35	26	28	21	14	40	32	35

Es verflüssigt also (wie dies auch Holliger konstatiert) der gelbe Gasbildner stets schneller als coli albidoliquefaciens; der gelbe Säurebildner wiederum rascher als der gelbe Gasbildner.

Im Wachstum auf den gewöhnlichen

3. Flüssigen Nährböden

bietet der gelbe Gasbildner geringfügige, aber konstante Abweichungen von Levans dar, welche auch Holliger feststellt. Es sind dies die schwächere Trübung der Bouillon und die leicht gelbliche Färbung des entstehenden Bodensatzes. In Zuckerbouillon (Dextrose- und Laktosebouillon) findet aber wie bei coli albidoliquefaciens sehr starke Trübung statt.

Der gelbe Säurebildner entfernt sich wieder etwas mehr von coli albidoliquefaciens: Trübung und Bodensatz sind in Bouillon und Zuckerbouillon jedesmal schwächer wie bei den entsprechenden Kulturen des Gasbildners; diese anscheinend unwichtige Erscheinung war so konstant, dafs stets mit Sicherheit jedermann die gleichaltrigen Bouillonkulturen beider Arten voneinander richtig scheiden konnte.

4. Säurebildung.

Die Säurebildung durch die Gelben wurde ebenso wie die von Levans untersucht. Sie lieferte folgende Werte, welche wie in Tab. VI nach Abzug der den Säuregrad der nicht infizierten Zucker-

bouillon darstellenden Zahlen 0,3 resp. 0,2 erhalten wurden und somit die in 3 ccm tatsächlich gebildete Säuremenge bedeuten:

Tabelle XIII.

	1 proz. Dextrosebouillon nach		1 proz. Laktosebouillon nach	
	2 Tagen	5 Tagen	2 Tagen	5 Tagen
G. Gasbildner I .	0,4	0,4	0,7	0,9
» » II .	0,4	0,6	0,2	0,8
» » III .	1,0	1,0	0,2	1,0
» » IV .	0,7	0,9	0,1	0,9
» » V .	0,9	1,0	0,2	0,9
G. Säurebildner I .	0,4	0,4	—	—
» » II .	0,4	0,5	0,1	0,1
» » III	0,4	0,5	—	—
» » IV	0,4	0,6	—	—
» » V .	0,4	0,6	—	—
» » VI	0,4	0,6	—	—

Die Zahlen bedeuten ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Der gelbe Gasbildner unterscheidet sich in bezug auf die gebildete Säuremenge also nicht von coli var. typica und var. albidoliquefaciens; auch hier fällt die verzögerte Milchzuckervergärung auf.

Der »**Säurebildner**« verdient diesen Namen nur in bezug auf Dextrosevergärung; auch die hierbei erhaltenen Säuremengen sind kleiner als der Durchschnitt bei den anderen untersuchten Arten. **Säurebildung aus Milchzucker findet nicht statt.**

5. Gasbildung.

Die Untersuchung des vom gelben Gasbildner im Gärkölbchen bei 37° gebildeten Gases nach der einfachen Schüttelmethode ergab folgende Zahlen:

Tabelle XIV.

Gärkölbchen mit 1 proz. Traubenzuckerbouillon, infiziert mit	Gebildete Gasmenge nach		Durch 10% NaOH absorbierte Gasmenge (CO_2)	Ungefähres Verhältnis der durch NaOH absorbierten zur nicht absorbierten Gasmenge (H_2)
	1 Tag	2 Tagen		
Gelber Gasbildner I	6,7	4,7	1,7	1 : 2
» » II	1,2	5,1	3,5	2 : 1
» » III	4,8	5,8	3,9	2 : 1
» » IV	4,0	5,8	1,0	1 : 5
» » V	2,4	6,2	4,1	2 : 1

Auch in Gärkölbchen mit Milchzuckerbouillon wurde in allen Fällen Gas gebildet, fast stets in geringerer Menge.

Die Erwartung, dafs der gelbe Gasbildner Wasserstoff und Kohlensäure in ähnlichem Verhältnis wie albidoliquefaciens bilden würde, erscheint nach der kleinen Tabelle nur teilweise erfüllt; von den 5 Stämmen war nur dreimal das Verhältnis $Co_2 : H_2$ wie 2 : 1. Doch läfst sich wenigstens das abweichende Verhalten des Stammes I ungezwungen wohl so erklären, dafs bei der überstürzten Gasbildung dieses Stammes am zweiten Tag bereits eine beträchtliche Absorption des gebildeten Gases durch die Flüssigkeit des Gärkölbchens stattgefunden hatte. Nun hat aber schon Wolffin darauf hingewiesen — und auch Holliger hat diese Erfahrung gemacht —, dafs CO_2 in ungleich gröfserem Verhältnis absorbiert wird als H_2, wodurch bei beendeter Gärung erhebliche CO_2-Verluste entstehen müssen. Eine spätere Nachprüfung führte zu keinem Resultat; es stellte sich nämlich heraus, dafs bei späteren Untersuchungen der auf Agar fortgezüchteten Stämme die Gasbildung sowohl im Gärkölbchen wie in Zuckeragarschüttelkultur bedeutend geringer, teilweise auch verzögert war. Bei Levans-Kolistämmen war dergleichen nie beobachtet worden: selbst die jahrelang fortgezüchteten Sammlungsstämme a und c waren durchaus gärtüchtig geblieben. (Über Wolffins Stamm b s. o.)

Es ist also die Gärfähigkeit des gelben Gasbildners anscheinend eine labile Funktion.

6. Schlufsfolgerungen.

Aus den obigen Gegenüberstellungen hat sich folgendes ergeben:

Der gelbe Gasbildner unterscheidet sich vom B. coli albidoliquefaciens lediglich durch Abweichungen in der Bouillonkultur und dem Bau der Plattenkolonien, durch die Fähigkeit der Farbstoffbildung auf den verschiedenen Nährböden und raschere Gelatineverflüssigung, während sonst kein Unterschied zwischen gelbem Gasbildner und Levans besteht. Man mufs also Holliger durchaus beipflichten, wenn er auf Grund dieser Tatsachen eine Verwandtschaft zwischen seinem Gelben und seinem »Levans« annimmt.

Wir kommen nun zu unserem zweiten gelben Stäbchen β. Vom gelben Gasbildner ist es getrennt durch das Unvermögen der Gasbildung aus Dextrose und Laktose sowie der Säurebildung aus Laktose. Aufserdem haben wir aber gesehen, dafs ihm die Eigenschaften des gelben Gasbildners, die letzteren von Albidoliqu. unterscheiden, in gesteigertem Mafse zukommen: Farbstoffbildung, Gelatineverflüssigungsvermögen sowie die geringere Trübung der Bouillonkultur. Wir haben demnach hier ein neues, im Teig sich häufig findendes Bakterium. Bei der Durchsicht der älteren Autoren scheint es jedoch, als ob der »gelbe Säurebildner« schon früher gefunden worden ist. Wenigstens zeigt das Peterssche[1]) Stäbchen B und noch mehr ein von Wolffin beschriebenes und als diesem ähnlich bezeichnetes Bakterium des Sauerteigs in vielen Punkten Übereinstimmungen; nur erscheinen hier nicht recht vereinbar die gröfseren Dimensionen (3,6 $\times$ 0,9) des Wolffinschen gelben Stäbchens.

Auch B. Wolff[2]) fand im Hygienischen Institut in Würzburg bei der Schrotmehlgärung einen Säurebildner, den er als Stäbchen β bezeichnet; die Beschreibung dieses Stäbchens würde genau auf unsern gelben Säurebildner passen, fände sich nicht die Notiz: »Gelatine wird nicht verflüssigt.«

Dagegen scheint Holliger unsern gelben Säurebildner fast identisch in Händen gehabt zu haben. Sein bei der vergleichenden Untersuchung von Koli, Levans und gelbem Gasbildner als »Gelb III« beschriebenes Stäbchen unterscheidet sich nämlich von seinen »Gelb I« und »Gelb II« durch stärkeres Verflüssigungsvermögen und den Mangel der Gasbildung aus Traubenzucker. Zwar entspricht die Beschreibung der von seinen übrigen Gelben ebenfalls abweichenden Oberflächenplattenkolonie nicht ganz unserem gelben Säurebildner; auch ist über stärkere Pigmentbildung und über Nichtvergärung von Laktose nichts erwähnt: doch sind zwei Hauptunterschiede vom Typus des gelben Gasbildners ausgeprägt und sind Holliger auch so aufgefallen, dafs er von einem »wesentlich abweichenden Verhalten« spricht und

1) Zitiert nach Wolffin.

2) Bernhard Wolff, a. a. O.

Gelb III danach vorläufig als atypische Form des gelben Gasbildners auffaſst.

Auch an einigen anderen Stellen finden sich Bemerkungen, welche auf unsern gelben Säurebildner hinzudeuten scheinen. So bei Beschreibung der Agarkultur seines Gelben: »Farbe gelb, Belag stark glänzend« (S. 364). Und gelegentlich des Berichtes über Vorkulturversuche mit Sauerteig erwähnt er (S. 412) »gelbe Kolonien, welche leicht mit den bekannten gelben Gasbildnern verwechselt werden könnten. Sie enthielten ebenfalls Kurzstäbchen, die aber Gelatine leicht verflüssigen und noch aus anderen Gründen unschwer vom gelben Gasbildner zu unterscheiden sind.«

Es ist wahrscheinlich, daſs Holliger bei näherer Untersuchung einer weiteren Anzahl von »Gelben« den Typus des gelben Säurebildners häufiger gefunden hätte.

Fassen wir jetzt diese Ergebnisse mit denen des Abschnittes I zusammen:

Im gärenden Teig finden sich vier Arten von fakultativ anaeroben, nicht sporenbildenden, zuckervergärenden, beweglichen, nach Gram unfärbbaren Kurzstäbchen:

1. Bacterium coli;
2. Bacterium coli albidoliquefaciens;
3. Gelber Gasbildner;
4. Gelber Säurebildner.

Auf die Verwandtschaft dieser Arten ist in den vorhergehenden Ausführungen schon so oft hingewiesen worden, daſs es nur eine zusammenfassende Wiederholung bedeutet, wenn wir in der übersichtlichen Form folgenden Schemas darzustellen versuchen, wie sich Albidoliqu. und Gelbe in der angegebenen Reihenfolge allmählich vom wohlbekannten Typus des Bacterium coli commune entfernen; Stäbchen Nr. 4 hat schlieſslich bei seiner Eigenschaft, aus Traubenzucker nur wenig Säure, aus Milchzucker keine Säure und aus keinem Zucker Gas zu bilden, einen Anspruch auf eine gewisse Verwandtschaft mit Koli überhaupt nur noch in Anbetracht der Zwischenglieder 2 und 3.

Tabelle XV.

	Verflüssigung der Gelatine	Pigmentbildung auf			Trübung der Bouillon	Gasbildungsvermögen	Gasverhältnis $CO_2 : H_2$	Säurebildung aus	
		Gelatine u. Milch	Agar	Kartoffel				Dextrose	Laktose
1. B. coli .	fehlt	fehlt	fehlt	langsam, schwach	stark	stabil	1:3 bis 1:1	+	+
2. B. coli albidoliquefaciens . .	sehr langsam	fehlt	fehlt	langsam, schwach	stark	stabil	1:1 bis 2:1	+	+
3. Gelber Gasbildner	langsam	mäfsig schnell, stark	langsam, schwach	schnell, stark	mäfsig stark	labil	2:1 (doch Ausnahme!)	+	+
4. Gelber Säurebildner	schnell	schnell, stark	mäfsig schnell, stark	schnell, stark	schwach	—	—	+ (schwächer)	—

Der Versuch einer solchen Ableitung der Sauerteigarten von Bacterium coli zwingt zu der Frage:

Finden sich weitere Übergänge zwischen den 4 Arten?

Ein gewisser allmählicher Übergang zwischen 1 und 2 kommt zum Ausdruck in den Zahlen des Gasverhältnisses $CO_2 : H_2$, wie sie im ersten Teil der Arbeit im einzelnen aufgeführt und in dieser Hinsicht schon besprochen sind. Aufser dem Gasverhältnis trennt die var. albidoliquefaciens aber nur die geringe Verflüssigung vom Typus und auch diese ist nicht bei allen verflüssigenden Stämmen gleich kräftig.

Zweimal isolierte ich aus Sauerteig fakultativ anaerobe, gramentfärbte, indolbildende, bewegliche Kurzstäbchen, welche kein Gas, nur aus Dextrose Säure bildeten und durch schnelle Verflüssigung und schwache Trübung der Bouillonkultur zur Gruppe des gelben Säurebildners zu gehören schienen, aber in der Art der Pigmentbildung abwichen und so gewissermafsen Übergänge zu den anderen Arten darstellten. Das eine Stäbchen wuchs auf Gelatine gelblich, ähnlich dem gelben Gasbildner, auf Agar erst weifs, später bräunlichgelb, auf Kartoffel hellgrau, ähnlich Koli; Milch war nach 14 Tagen nicht koaguliert. Das andere Stäbchen koagulierte Milch mit gelber Oberflächenfarbe und ent-

sprach auch auf Gelatine dem Typus des gelben Säurebildners, wuchs aber auf Agar und Kartoffel fast farblos, sehr ähnlich Koli. Ob sich bei geduldigem Weitersuchen nicht noch andere Formen finden, welche nicht zu einer der 4 Formen sondern zwischen dieselben als Bindeglieder zu stellen sind — mufs sich erst noch zeigen. Kulturelle Umwandlungsversuche der einzelnen Arten habe ich nicht versucht.

III. Über das Vorkommen und die praktische Bedeutung der weifsen und gelben Gas- und Säurebildner der Koligruppe im gärenden Teig.

Im ersten und zweiten Abschnitt meiner Mitteilungen habe ich den Nachweis geführt, dafs drei unter sich nur gradweise verschiedene gas- und säurebildende, indolbildende, nach Gram unfärbbare Bakterienformen aus gärendem Mehlteig und Sauerteig zu isolieren sind, Organismen, auf welche teils die Beschreibung des Bacterium levans von Wolffin, resp. von Fränkel und Papasotiriu in allen oder sehr vielen Stücken pafst, während andere Stämme, auf die Holliger zuerst aufmerksam gemacht hat, sich weiter davon entfernen.

Es ist nun die Verbreitung und die praktische Bedeutung dieser Arten zu erörtern.

Holliger hat diese Fragen eingehend bearbeitet und ist zu Resultaten gekommen, die von denen Wolffins vielfach diametral abweichen. Meine eigenen Befunde nehmen etwa eine vermittelnde Stellung ein. Zwar war es mir aus äufseren Gründen nicht möglich, die praktische Frage der Sauerteiggärung am Würzburger Material so eingehend zu studieren, um entscheiden zu können, wie weit Holligers Darstellung auch hier Gültigkeit hat. Gleichwohl glaube ich mich berechtigt, die Resultate einiger Untersuchungen mitzuteilen, welche geeignet sind, schon jetzt in einigen wichtigen Punkten Holligers Befunde zu bestätigen, in anderen jedoch auch Abweichungen unseres Würzburger Materials erkennen lassen, wie sie sich ja auch schon im ersten Abschnitt der Arbeit ergeben haben.

a) Die Häufigkeit des Vorkommens der weifsen und gelben Gasbildner im Würzburger Sauerteig.

Wolffin fand, wie in der Einleitung erwähnt, neben der Hefe im Sauerteig regelmäfsig sein »Bacterium levans«.

Holliger bezeichnet es als einen Fehler Wolffins, dafs dieser sich zur Erkenntnis der im Sauerteig tätigen Organismen stets der im Brutschrank schnell gärenden Zuckerbouillonvorkultur bedient hat. Holliger nennt diese Methode mit Recht ein Anreicherungsverfahren, weil sie einerseits eine Vermehrung der Spaltpilze, anderseits eine Beeinträchtigung der Sprofspilze bedeutet; damit sei sie geeignet, zu einer unrichtigen Deutung des Prozesses der Sauerteiggärung zu führen. Deshalb bediente er sich des direkten Plattenverfahrens. Das Resultat der Untersuchung einer Reihe von Sauerteigen mit dieser Methode war: starkes Zurücktreten der Bakterienflora gegenüber der Hefe und insbesondere nur äufserst seltenes und spärliches Auftreten der gasbildenden Spaltpilze auf den Sauerteigplatten. Ähnliches hatte auch Wolffin mit der direkten Plattenmethode gefunden. Während dieser aber mit dem Anreicherungsverfahren ausschliefslich Kolonien der Spaltpilze vom Typus des Bacterium coli erhalten hatte, kam Holliger mit dieser Methode zu anderen Resultaten: Von 5 bei 37° gehaltenen Vorkulturen fand er dreimal Gärung bewirkt durch Hefe, einmal durch den gelben Gasbildner, einmal fand er trotz vorhandener Gärung nur Bacillus megaterium und mesentericus (!). Bei Zimmertemperatur, wo die Gärung langsamer stattfand, fand er in drei Versuchen:

1. Gelber Gasbildner neben der Zahl nach zurücktretenden Fluorescens. 2. Hefe und gelbe Kolonien, ähnlich denen des gelben Gasbildners (wohl meinen »gelben Säurebildner« vgl. o.) 3. Hefe.

Ich habe im Laufe meiner obigen Arbeiten eine Reihe von Sauerteigen bakteriologisch untersucht (Sauerteig VIII—XIV der folgenden Tabelle); zugleich teile ich die Resultate weiterer 7 Sauerteiguntersuchungen (I—VII) mit, welche im vorigen Jahre von Herrn Dr. Armand, der mir seine Protokolle zur Benut-

zung in freundlicher Weise überliefs, vorgenommen waren. Die 14 verschiedenen Sauerteige stammten aus 8—10 verschiedenen Würzburger Bäckereien.

Methode: Es wurde eine geringe Menge Sauerteig, etwa so viel, als an der Spitze des Glasstabes haften blieb, in 10 ccm sterilem Wasser in sterilem Gefäfs verrieben, bis eine gleichmäfsig getrübte Emulsion hergestellt war. Von dieser Aufschwemmung wurde in den meisten Fällen das Material zur mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen und im nach Gram gefärbten Präparat entnommen. In den von mir untersuchten Fällen bewährte sich mir dabei sehr gut die Doppelfärbung Gram-Fuchsin: nach vollendeter üblicher Gramfärbung wird das wieder lufttrockene Präparat 45 Sekunden mit wässeriger Fuchsinlösung nachgefärbt, mit Wasser abgespült und getrocknet. Die grampositiven Elemente der Aufschwemmung (Hefe, Stäbchen, Kokken) zeigen dann die gewohnte intensive Violettfärbung, von der sich die gramnegativen, rotgefärbten Kurzstäbchen scharf abheben.

Die Methode der Plattenuntersuchung war wie bei Holliger: eine grofse Öse der Emulsion lieferte die dichteste Platte (a), von dieser durch Abimpfung mit grofser Öse (resp. zwei kleinen Ösen) die zweite (b) und dritte (c) Verdünnung. Dabei wurde Platte a sehr oft zu dicht und besonders infolge allgemeiner Verflüssigung der Gelatine durch Keime der Proteus- und Kartoffelbazillusgruppe, welche fast nie fehlten, unbrauchbar.. In zwei Fällen (I und XI) wurden Agar-, sonst nur Gelatineplatten gegossen.

Zur Anlegung einer Vorkultur wurde eine Öse der Sauerteigaufschwemmung auf ein Röhrchen oder Gärkölbchen 1 proz. Traubenzuckerbouillon (nur bei XII Milchzuckerbouillon) verimpft. Nach 24 stündigem Stehen im Brutschrank war im Kölbchen stets starke Trübung und schaumige Gärung resp. Gasbildung eingetreten (Ausnahme XIV, Trübung und Gärung gering). Die gärende Vorkultur wurde dann in den meisten Fällen analog der primären Aufschwemmung zur direkten mikroskopischen sowie zur Plattenuntersuchung verwendet. Die kurzgefafsten Resultate sind in tabellarischer Übersicht zusammengestellt.

Tabelle XVI.

Sauerteig	Direkte Aufschwemmung		24 stündige Zuckerbouillon-Vorkultur	
	Mikroskopischer Befund	Platten	Mikroskopischer Befund	Platten
I	—	Agarplatten: Zarter, bläulichschimmernder Rasen eines schlanken, im Mittel 4 μ langen, gramfärbbaren, nicht gasbildenden Stäbchens mit träger Eigenbewegung.	Anscheinend Reinkultur von koliartigen Kurzstäbchen.	—
II	Auffallend wenig Hefe; viele unbewegl., gramgefärbte Stäbchen verschied. Länge, einzeln u. in Ketten. Nur wenig gramentfärbte bewegl. Kurzstäbch. (»koliartig«).	Weifse Gasbildner [1]) isoliert.	—	—
III	Wie II.	Neben Hefe weifse Gasbildner.	—	—
IV	Auffallend viel Hefezellen.	Aufser wenigen Kokken zeigen die Platten eine Reinkultur von Hefe.	—	Weifse Gasbildner ohne Mühe isoliert.
V	—	Sehr reichliches Wachstum, nur c-Platte brauchbar. Neben wenig verflüssigenden in der Mehrzahl Kolonien des gelben Gasbildners, wenige typische Kolonien des w. G. B.	—	—

1) Ich erinnere noch einmal daran, dafs unter dem Namen »weifse Gasbildner« (w. G. B.) im folgenden stets alle weifsen, gasbildenden Kurzstäbchen vom Kolitypus (Bact. coli und coli albidoliquefaciens) zusammengefafst sind; von ihnen habe ich den gelben Gasbildner und den gelben Säurebildner unterschieden. Alle vier Arten gemeinsam werden als »koliartige Kurzstäbchen« bezeichnet.

Fortsetzung zu Tabelle XVI.

Sauerteig	Direkte Aufschwemmung		24 stündige Zuckerbouillon-Vorkultur	
	Mikroskopischer Befund	Platten	Mikroskopischer Befund	Platten
VI	Hefezellen. Kettenbildende grampositive Stäbchen. Koliartige Kurzstäbchen nicht gesehen.	Langsames und kümmerliches Wachstum. Außer einigen verflüssigenden Kokkenkolonien wächst nur Saccharomyces minor.	—	Weiße Gasbildner in großer Zahl.
VII	Hefe; bei weitem zahlreich. Bakterien verschieden. Form, gramnegative darunter nicht gesehen.	Reichliches Wachstum, a-Platte zu dicht. Auf Platte b und c meist Hefe und Kokken, daneben Kolonien des weißen und in geringerer Anzahl des gelben Gasbildners.	—	—
VIII	Hefezellen in mäßiger Zahl. Viele Ketten grampositiver Stäbch., wenig koliartige Kurzstäbchen.	In der Mehrzahl w. G. B.- und gelbe Kolonien, aus denen sowohl der gelbe Gasbildner als auch der gelbe Säurebildner isoliert wird. Weniger Hefe. Einige verflüss. Kolonien (Fluorescens).	Kurzstäbchen vom Kolitypus, daneben wenig Hefezellen.	Überwiegend Kolonien des gelben, in der Minderzahl der weißen Gasbildner, dazwischen vereinzelt Hefe. Auf Platte c viele Kolonien d. gelben Säurebildners.
IX	Viel Hefe. Zahlreich. gramgefärbte und entfärbte Stäbchen verschieden. Länge	Rasche Verflüssigung der Platten durch Bacillus mesentericus.	Einzelne Hefezellen, sonst Reinkultur koliartiger Kurzstäbchen.	Anscheinend Reinkultur der weißen Gasbildner.
X	Reichl. Hefezellen. Zahlreich. Stäbchen, $\frac{\text{Gram} +}{\text{Gram} -} = \frac{2}{1}$	In der Überzahl Hefekolonien, in geringerer Zahl gelber Gasbildner und gelber Säurebildner.	Stäbchen, Mehrzahl koliartig, Minderzahl gramgefärbt.	Weitaus überwiegend Kolonien des gelben Gasbildners weniger des weißen.

XI	Sehr wenig Hefe. Zahlreiche grampositive, viel weniger koliartige Kurzstäbchen.	Agarplatten: Es wachsen nur einige weiſse Kolonien von Mikrokokken und Oberflächenrasen eines dicken, Gelatine verflüssigend., sporentragenden Kurzstäbchens.	Anscheinend Reinkultur koliartiger Kurzstäbchen.	Agarplatten: Pl. a: Reinkultur der weiſsen Gasbildner. Pl. b und c: Oberflächenrasen des Sporenbildners (vergleiche die direkten Platten!)
XII	Ähnlich XI, daneben noch Kokken in geringer Zahl.	Platte a: Sehr dicht, durch 11 Proteuskolonien rasch verflüssigt. Einzelne glänzend weiſse Kolon. (Mikrokokkus). Aus der Menge der übrigen wurden durch Sekundärplatten sowohl weiſse als auch gelbe Gas- und gelbe Säurebildner, nicht aber Hefe isoliert. Platte b: Einige Kolonien d. gelben Gasbildners und Kokken. Auf Platten mit essigsaurer Gelatine spärliches Wachstum: Nur Saccharomyces minor.	(Milchzuckerbouillon.) Vereinzelte Langstäbchen, Kokken und Hefezellen, sonst nur koliartige Kurzstäbchen.	Pl. a: Überzahl gelbe, weniger weiſse Gasbildner, daneben vereinzelte, rasch verflüssigende Kolonien. Pl. b: Mehr weiſse als gelbe Gasbildner. Pl. c: Etwa sechsmal mehr weiſse als gelbe Gasbildner. Auch auf den essigsauren Gelatineplatten wächst neben kümmerlichen Hefekolonien und Kokken der weiſse Gasbildner in einigen ebenfalls kümmerlichen Kolonien.
XIII	Wenig Hefe, zahlreiche, meist gramfärbbare Stäbchen.	Platte a: Durch Proteus rasch verflüssigt. Platte b: 100 Kolonien von Saccharomyces minor., einige weiſse und gelbe Kokkenkolonien; zahlreiche gelbe Kolonien von Kurzstäbchen, darunter solche des gelben Säurebildners.	Vereinzelte feine, meist in Diploform angeordnet. Kokken und gramfärbbare Bakterien; zahlreiche koliartige Kurzstäbchen.	Ziemlich viel Diplokokken und Bact. vulgare, etwas weniger vertreten Kolonien des gelben Gasbildners. Mehrzahl intensiv gelbe Kolonien, darunter solche des gelben Säurebildners. Vereinzelt Kartoffelbazillus.
XIV	Wie XIII, auſserdem vereinzelt feine Diplokokken.	Platte 1: Groſse verflüssigende Kolonie (Proteus vulgaris), vereinzelte Kolonien des gelben Gasbildners, sonst anscheinend nur weiſse Gasbildner in groſser Zahl. Hefe nicht gesehen.	Ziemlich zahlreiche Diplokokken (cf. XIII); Überzahl Stäbchen, meist koliartig.	Pl. a: Rasch verflüssigt durch Kokken und Proteus. Auf Sekundärplatten in Überzahl weiſse und gelbe Gasbildner. Pl. b: Proteus, Kokken, weiſse und gelbe Gasbildner.

Aus der Tabelle geht hervor, dafs von 14 Sauerteigen 8mal fakultativ anaerobe Gasbildner aus direkten Gelatineplatten gewonnen wurden; meist fanden sich weifse und gelbe Gasbildner zugleich und durchschnittlich in gleicher Menge.

Über die tatsächliche Häufigkeit des gelben Säurebildners gibt die Übersicht kein klares Bild, da Herr Dr. Armand bei seinen vorjährigen Untersuchungen (Sauerteig I—VII) auf die Unterscheidung dieser Art keinen Wert legte, vielmehr nur auf das Vorhandensein gasbildender Spaltpilze achtete. Bei meinen eigenen 7 Sauerteigen fand sich der gelbe Säurebildner auf direkten Platten viermal, davon einmal ohne die verwandten Gasbildner. In allen Fällen wurde die Identität des Säurebildners durch Gelatine- und Agarkultur, Milchkoagulation, Säure- und Indolnachweis festgestellt.

Vergleichen wir nun kurz unsere Ergebnisse mit den oben besprochenen Wolffins und Holligers. Wolffin hatte anscheinend nur sehr wenig direkte Plattenkulturen angewendet[1]), auf denen er Bakterienkolonien gegenüber der Hefe nur »sehr mäfsig vertreten« fand; später bediente er sich ja stets der Vorkultur. Holliger fand, wie wir sehen, die gasbildenden Spaltpilze auf den direkten Platten »äufserst selten und spärlich«.

Damit läfst sich unser Resultat schlechterdings nicht vereinigen, nachdem in 8 von 14 Fällen die Bakterien da waren; ja es übertrafen sogar davon 4mal in den offenbar sehr hefearmen Sauerteigen (vgl. mikroskopisches Präparat!) (V, VIII, XII, XIV) ihre Kolonien diejenigen der Sprofspilze an Zahl, welche in einem Fall überhaupt nicht auf den Platten auftraten. In einem Fall (VII) traten etwa gleich viel Kolonien von Hefe und weifsen Gasbildnern auf; dagegen waren in vier anderen die Hefekolonien den gasbildenden Bakterien an Zahl nicht nur überlegen, sondern es fand sich davon sogar zweimal (IV und VI) sozusagen nur Hefe, wie es Holliger so oft zu sehen gewohnt war. Dennoch scheint im allgemeinen schon nach dem Ergebnis

1) Wolffins 1893 ausgeführte Arbeit war in der Methode ziemlich beeinflufst von den damals aufgekommenen Vorkulturmethoden für den Choleranachweis.

der direkten Platten ein Unterschied zwischen unserem und Holligers Sauerteig zu bestehen, welcher noch schärfer in der zweiten Kolumne unserer Tabelle zum Ausdruck kommt. Die 24stündige gärende Vorkultur enthielt also zwar nicht immer, wie Wolffin angibt, ausschliefslich, doch stets in grofser Menge »koliartige«, d. h. bewegliche, nach Gram entfärbte Kurzstäbchen; daneben fanden sich im Präparat einige Male Hefezellen in geringer Anzahl, nach Gram färbbare Stäbchen und Kokken. Stets waren aber die Bakterien vom Kolitypus am stärksten vertreten, einige Male sogar anscheinend in »Reinkultur«; es mufsten also offenbar sie die Gärung der Zuckerbouillon veranlafst haben. Entsprechend war denn auch stets das Bild der daraus gegossenen Platten.

Wie lassen sich nun unsere Untersuchungsresultate, welche den Wolffinschen ziemlich entsprechen, mit denen Holligers vereinbaren?

Holliger sucht diesen Widerspruch mit verschiedenen Argumenten zu erklären: einmal findet er eine gewisse Einseitigkeit in der Beschaffenheit des Ausgangsmaterials Wolffins, welches stets aus denselben zwei Würzburger Bäckereien bezogen war. Diese Erklärung, auf welche Holliger allerdings selbst wenig Wert legt, ist wohl hinfällig geworden, nachdem unsere Sauerteige aus mindestens acht verschiedenen Bäckereien stammten. Unser Material kann wohl mit Recht als der seit Jahren in Würzburg vorherrschende Sauerteigtypus bezeichnet werden: gaben doch meine letzten Untersuchungen ungefähr dasselbe Ergebnis wie die vorjährigen Herrn Armands und die Wolffinschen vor 10 Jahren!

Auch eine Verimpfung relativ grofser Mengen des Teiges auf die Vorkultur fand bei uns nicht statt; es genügte stets eine grofse resp. zwei kleine Osen der wässerigen Sauerteigaufschwemmung, um oft über Nacht, spätestens aber in 24 Stunden bei 37° meist sehr kräftige Gärung der Zuckerbouillon zu bewirken.

Von gröfserer Bedeutung scheint der dritte Punkt zu sein, den Holliger anführt: Wolffin habe die Teigproben »in ganz frischem Zustande, unmittelbar nachdem sie aus der Bäckerei

bezogen waren«, verarbeitet. Wir haben allerdings stets frischen Sauerteig verarbeiten müssen, da er in den Bäckereien jeden Tag frisch vermehrt wird; wir untersuchten ihn eben so, wie er zur Brotgärung täglich verwendet wurde. Einige Male (XIII und XIV) wurde absichtlich auch »alter« Sauerteig, d. h. solcher, der vom vorigen Tage übrig geblieben und noch nicht frisch vermehrt war. am zweiten resp. dritten Tag untersucht ohne ein anderes Resultat bezüglich des Vorkommens der Bakterien.

Es scheint demnach, als ob der in Würzburg übliche Sauerteig bezüglich seines Gehaltes an Hefe einerseits und gasbildenden Bakterien anderseits in der Tat nicht ganz dem der Schweizer Bäckereien und Bauernhöfe entspreche, eine Vermutung, welche Wolffin bereits gegenüber den Dünnenberger schen Angaben ausgesprochen hat.

Eine gewisse Differenz der Kulturbefunde könnte auch durch die Reaktion der verwendeten Nährböden bedingt sein, Wolffin arbeitete, wo nichts anderes angegeben, mit Nährböden, die bis zum Phenolphthaleinrötungspunkt alkalisiert waren, meine Nährböden enthielten pro Liter etwa 3—5 ccm Normal Natronlauge weniger. Stark alkalische Nährböden begünstigen unbedingt die koliartigen Stäbchen sehr gegenüber den Hefen.

b) Die praktische Bedeutung der weifsen und gelben Gasbildner für die Teiglockerung.

Wolffin hatte 1. gasbildende Spaltpilze aus gärendem Mehl regelmäfsig gezüchtet, 2. steriles Mehl durch seinen Gasbildner, ebenso durch echten Darmkoli in Gärung versetzt. Daraus zog er den Schlufs, dafs bei der Mehlgärung ohne Sauerteigzusatz sein »Bacterium levans« eine wichtige Rolle als Gärungserreger spiele.

Durch Holligers Untersuchungen wurde dies bestätigt insofern, als auch er als allein wirksame Organismen bei der spontanen Mehlwassergärung die gasbildenden koliähnlichen Spaltpilze fand; auch er konnte in mit Äther sterilisiertem

Mehl durch Einimpfung des weifsen und gelben Gasbildners typische Gärung erzeugen.[1])

Die Wolffinsche Darstellung seiner Auffassung der Bedeutung des Bact. levans für die Sauerteiggärung ist nicht ganz scharf. Er erkannte die wichtige Tatsache, dafs bei der Gärung eines mit Sauerteig angesetzten Mehlbreies als Gärungsgas fast ausschliefslich CO_2, dagegen kein Wasserstoff gebildet wird (wie es vor ihm schon Aimé-Girard nachgewiesen hatte), und zog denn auch daraus den konsequenten Schlufs: »Praktisch ist bei jeder Teigbereitung, bei der ein Zusatz von Hefe oder Sauerteig stattfindet, die Hefe, das lockernde Agens.«

Trotzdem spricht Wolffin dann in seinen Schlufssätzen[2]) von einer Mitbeteiligung seines Bact. levans bei der üblichen Schwarzbrotbereitung mit Sauerteig und nennt diese eine »kombinierte Gärung durch Saccharomyces minor und Bact. levans«, welch letzterer dabei sich immerhin wie an der Säurebildung, so auch an der CO_2-Bildung beteiligen könne.

Es wäre also der Wolffinsche Standpunkt wohl genauer so zu fixieren: Zwischen der Levansgärung und der Hefegärung kommen Übergänge vor, die Teiglockerung bei Sauerteigverwendung wird in der Regel praktisch durch Hefe bedingt, in anderen Fällen kann auch Levans an der Gasbildung und Teiglockerung teilnehmen, auch an der Teigsäuerung (die Wolffin nicht speziell studierte) ist er beteiligt. Nach seinen Versuchen waren wohl diese Schlüsse berechtigt.

Holliger stellte, um sich über die Bedeutung der gasbildenden Bakterien bei dem Sauerteiggärungsprozefs zu informieren, ebenfalls Versuche mit Mehlgärung durch Sauerteig an; in den verschiedenen Stadien der Gärung gofs er aus dem Teig

1) Herr Oberstabsarzt Dombrowsky hat unter Leitung von Herrn Prof. Lehmann — wie er alsbald ausführlicher mitteilen wird — mit Bact. coli und Bact. levans auch deutliches Aufgehen von Mehlproben erhalten, welche im Autoklaven sterilisiert waren.

2) Dabei war Wolffin, wohl beeinflufst von einer späteren, nach Abschlufs seiner Arbeit vorgenommenen Gasanalyse, in der er bei kombinierter starker Beimpfung eines Mehles mit Bact. levans und Hefe einen H_2-Gehalt der Gärungsgase von 6,5 resp. 7,4% gefunden hatte. (Vgl. S. 39 in Wolffins Arbeit.)

Gelatineplatten. Bei drei Versuchen ergab sich übereinstimmend, dafs beim Zusetzen von Sauerteig zu Mehl und Wasser mit Ausnahme der Milchsäurebakterien vom Typus des Bact. lactis acidi Leichmann (Streptococcus Güntheri Lehm. und Neumann) alle Bakterien, speziell die fakultativ anaeroben Gasbildner, sich nicht vermehren, sondern nach kürzester Zeit vernichtet werden. Zugleich ergaben Zählungen eine mit dem Verlauf der Gärung stetig zunehmende Vermehrung der Sprofspilze. Daraus ergab sich der Schlufs, dafs nicht Bact. levans und verwandte Spaltpilze, sondern die Hefe der Erreger der Sauerteiggärung ist, soweit man darunter die Lockerung des Teiges durch Gasbildung versteht.

Um mich nun meinerseits über das Verhalten der von mir im Sauerteig gefundenen koliähnlichen Gas- und Säurebildner beim Gärungsprozefs einigermafsen zu orientieren, stellte ich in analoger Weise wie Holliger einige Gärversuche mit Sauerteig an:

Methode: Es wurde eine geringe Menge Sauerteig (ca. 3 g) mit 50 g Mehl und 50 g sterilem Wasser zu einem Teig angerührt und dieser bei 30 bis 32° C gehalten. Im Verlauf der Gärung wurde aus der Mitte des Teiges Material zur Herstellung einer Emulsion in 10 ccm sterilem Wasser oder steriler Bouillon und diese analog den Sauerteiguntersuchungen zu mikroskopischer Untersuchung, direkten Plattenkulturen und zur Anlegung einer Zuckerbouillonvorkultur verwendet.

(Siehe Tabelle XVII auf S. 107.)

Das Ergebnis ist also in mehreren Punkten entgegengesetzt dem der Holligerschen analogen Versuche und entspricht den bei den Sauerteiguntersuchungen gemachten Erfahrungen:

1. Im Präparat fanden sich ebenso wie auf den Platten mit neutraler Gelatine nach 4 und 7 Stunden nur wenig Hefezellen. In Plattenkulturen trat Hefe fast nur auf den sauren Nährböden auf.
2. Die gasbildenden Bakterien wurden im Laufe der Gärung nicht abgetötet.
3. Auffallend ist das reichliche Auftreten des gelben Säurebildners; es macht den Eindruck, als ob derselbe bei der Säuerung des Teiges in Masse mitwirke. Er vermehrt sich in der Traubenzuckerbouillonvorkultur stark, in Milchzuckerbouillon (Untersuchung nach 4 Stunden) vermehrt er sich nicht. (Vgl. Abschnitt II der Arbeit.)

Tabelle XVII.

Gärversuch I.

Zeit nach dem Kneten des Teiges	Mikroskopisches Präparat	Direkte Platten	Vorkultur
A) Nach 4 Stunden: Beginnende Gärung. (Gasblasen)	Sehr wenig Hefe, viele Bakterien, von denen die Mehrzahl durch Unbeweglichkeit, positive Gramfärbung und Kettenbildung von der Minderzahl mit Kolitypus absticht.	1. Neutrale Gelatine: Auf allen drei Platten sehr viel Kolonien des gelben Säurebildners, wenig Sprofspilze und Kokken (Mikrococcus candicans und sulfureus Lehmann et Neumann), vereinzelt Bac. megaterium. 2. Saure Gelatine: Wachstum nur auf a-Platte. Die auftretenden rundlichen Kolonien sind sämtlich Hefe. Daneben einige Fadenpilzkolonien.	Milchzuckerbouillon. Nach 24 Stunden stark getrübt und schäumend. Gelatineplatten anscheinend Reinkultur d. weifsen Gasbildners.
B) Nach 7 Stunden: Teig kräftig aufgegangen.	Hefe ganz vereinzelt. Stäbchen verschiedener Art. Kolitypus eher reichlicher vertreten als bei A).	1. Neutrale Gelatine: a-Platte dicht bewachsen, Mehrzahl Kolonien des gelben Säurebildners. Dazwischen einige typische Oberflächenkolonien von gelben und weifsen Gasbildnern. 3 Kolonien v. Saccharomyces minor. b- u. c-Platten fast steril. 2. Saure Gelatine: Einige Schimmel-, sonst nur Hefekolon.	Traubenzuckerbouillon. Anscheinend Reinkultur d. gelben Säurebildners.

C) Nach 24 Stunden bot das mikroskopische Präparat das nämliche Bild: Wenig Hefe, viel Bakterien. Platten wurden nicht gegossen.

Gärversuch II.

Ein zweiter Gärversuch mit Sauerteig wurde in derselben Weise gemeinsam mit Herrn Dr Armand ausgeführt. Der Teig wurde 2, 4, 6, 8, 24 Stunden nach dem Kneten untersucht. Das Resultat war ähnlich, insofern als auch hier die Hefe im Laufe der Gärung sich nicht zu vermehren schien; auch hier trat der gelbe Säurebildner in den drei ersten Untersuchungen relativ reichlich auf; daneben fanden sich stets die Gasbildner auf den Platten. Jedoch nahm auch ihre Zahl auf der Höhe der Gärung ab; auf den vom 24stündigen vergorenen Teig gegossenen Platten gingen überhaupt nur einige Kokken und Kolonien des Streptococcus Güntheri (Lehmann et Neumann) auf.

Die vorstehend mitgeteilten Untersuchungen sind natürlich keineswegs geeignet, einen vollgültigen Beweis für die Mitarbeit

der koliähnlichen Spaltpilze als Teiglockerer bei Sauerteiggärung in Würzburg zu liefern, doch läfst das massenhafte Auftreten des gelben Säurebildners auch das gelegentliche reichliche Auftreten der weifsen und gelben Gasbildner möglich erscheinen.

Jedenfalls scheint aus den Versuchen wenigstens soviel hervorzugehen, dafs die Verhältnisse bei unserem Würzburger Sauerteig etwas anders liegen als bei den von Holliger untersuchten Schweizer Sauerteigen: Dieser stellt eine hefereiche und spaltpilzarme, jener mindestens in manchen Fällen eine hefearme und bakterienreiche Mischung dar. Dadurch ist eine gelegentliche Verschiedenheit des Gärungsprozesses bei beiden Arten nicht unwahrscheinlich.

c) Besitzen die Säuremengen, welche die vier beschriebenen Bakterienarten bilden, eine praktische Bedeutung für die Brotsäuerung, und welche Anhaltspunkte finden sich für anderweite Quellen der Säurebildung?

Da sich in 3 ccm Zuckerlösung etwa 1,0 $^1/_{10}$ N.-S. bilden, so bilden sich in 10 ccm 3,0 ccm $^1/_{10}$ und in 100 3 ccm N.-S. Da schwach saures Brot für 100 ccm etwa 1—3, mittelsaures etwa 3—5—8 ccm Säure pro 100 g enthält, so erscheint es möglich, dafs die besprochenen Arten als Säurebildner mitwirken. Doch ist zu einem sicheren Entscheid der Frage notwendig zu wissen, welche Säuremengen in sterilem Mehl gebildet werden — worüber von anderer Seite im Würzburger Hygienischen Institut gearbeitet wird.

Jedenfalls ist es absolut unwahrscheinlich, dafs die Säuremengen, welche stark saures Brot enthalten (bis 20 ccm Normalsäure pro 100 g), von den bisher von mir studierten Säurebildern gebildet werden.

Holliger hat denn auch nach anderen gesucht und fand bei Anwendung anaerober Kulturmethoden im Sauerteig ein unbewegliches Stäbchen, welches der Gruppe der nichtgasbildenden stäbchenförmigen Michsäurebakterien (Vertreter: Bacillus acidificans longissimus Lafar, Bacillus lactis acidi Leichmann u. a.)

angehört und sich nach weiteren Untersuchungen nicht nur in jedem Sauerteig, sondern auch im Prefshefeteig sehr zahlreich vorfand. Diesem »spezifischen Sauerteigstäbchen« im Verein mit dem kleinen Bacterium lactis acidi Leichmann (-Streptococcus Güntheri Lehm. et Neum.) weist er auf Grund weiterer Experimente die Funktion der Säurebildung bei der Teiggärung zu; auch sollen sie durch ihre mit der Gärung eintretende Vermehrung dafür zu sorgen haben, dafs die von der Hefe eingeleitete alkoholische Gärung nicht durch unangenehme Nebengärungen, wie sie aufser Buttersäurebakterien auch die Bakterien der Koli-Gruppe auslösen können, begleitet wird, und sollen somit bei der Sauerteiggärung das Aufkommen der bei der spontanen Teiggärung wirksamen gas- und säurebildenden Bakterien verhindern.

Ich habe nun am Schlusse meiner Untersuchungen nur einige orientierende Beobachtungen angestellt, indem ich nach Holligers Vorgang mich der anaeroben Züchtung bediente. Auch mir war im mikroskopischen Bilde der Sauerteigaufschwemmungen die grofse Zahl von Bakterien aufgefallen, welche sich von den Stäbchen der Koligruppe scharf scheiden liefs durch

1. Unbeweglichkeit,
2. positive Gramfärbung,
3. Neigung zur Bildung längerer Ketten.

Die Länge der Stäbchen war, wie auch Holliger angibt, stark variierend, so dafs oft in einer Kette von 5—6 Gliedern die verschiedensten Längen von 2—6 μ zu sehen waren. Meist betrug sie 3—4 μ, die Dicke $^3/_4$ μ. Da derartige Stäbchen auf den gewöhnlichen Platten nie auftraten, war Holligers Angabe, dafs es sich um Anaerobe handle, von vornherein einleuchtend und wurde durch den Versuch vollständig bestätigt.

Methode: In der gewohnten Weise wurde die Sauerteigaufschwemmung hergestellt und davon eine grofse Öse zur Aussaat auf 2% Traubenzuckeragar entnommen. Die damit gegossenen Platten wurden nach der Buchnerschen Methode über

alkalischer Pyrogallollösung im luftdicht verschlossenen Exsikkator bei 37° gehalten.

Versuch I.

Es wuchsen drei Arten von Kolonien in grofser Menge:

1. Winzige, nur mit der Lupe erkennbare Kolonien: feine, meist in Diploform angeordnete, nach Gram färbbare Kokken.
2. Punktförmige Kolonien: kurze, 1,2 μ lange, 0,6 μ dicke, nach Gram färbbare, meist zu zweien angeordnete kurze, rundliche oder zugespitzte Stäbchen: Bact. s. Streptococc. Güntheri (Lehmann et Neumann).
3. Oberflächliche, glänzend weifse, streng runde, $^1/_2$—1 mm Durchmesser haltende Kolonien: Unbewegliche, nach Gram färbbare, kettenbildende Stäbchen von verschiedener, meist 3—4 μ betragender Länge. Sie entsprachen also dem Holligerschen Typus der »spezifischen Sauerteigstäbchen.

Versuch II.

Ebenfalls sehr starkes Wachstum; die Agarplatten sind von einigen Gasblasen durchsetzt.

1. Kolonien des Bact. Güntheri.
2. Kolonien des »Holligerschen Sauerteigstäbchens«.
3. Koliähnliche Kolonien verschiedener Gröfse: Nach Form, negativer Gramfärbung und Gasbildungsvermögen koliartige, doch unbewegliche Kurzstäbchen: Bact. lactis aerogenes (Lehmann et Neumann) resp. Bact. acidi lactici (Hueppe).

Wir haben also wie Holliger durch anaerobe Züchtung im Sauerteig mit Leichtigkeit und in grofser Menge gefunden:

1. Die Sauerteigstäbchen: Dafs es sich um Säurebildner handelte, wurde durch Titrieren einer aufgekochten Zuckeragarstichkultur nachgewiesen. In dieser wuchs das Stäbchen kräftig im Stich bis dicht unter die Oberfläche, bildet jedoch auf ihr keinen Rasen. Gas wird nicht gebildet. Im Gelatinestich sehr zartes anaerobes Wachstum. In aerober Zuckerbouillon erfolgt kein Wachstum.
2. Bakterium Güntheri (Lehmann et Neumann) = Bacterium lactis acidi Leichmann. Er bildet ebenfalls kein Gas, kräftig Säure: 3 ccm infizierte Dextrosebouillon wird durch 2,1 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH neutralisiert, Milch in 2—3 Tagen fest koaguliert.

Außer diesen fanden wir aber noch zwei von Holliger nicht angegebene Arten:

3. Die oben beschriebenen, zarten Diplokokken, ähnlich den auch schon auf aeroben Sauerteigplatten (XIII s. o.) gesehenen. Sie wachsen gut in Zuckerbouillon und erweisen sich ebenfalls als kräftige Säurebildner: 3 ccm Dextrosebouillon wird durch 2,0, Laktosebouillon durch 1,2 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH neutralisiert. Das Wachstum auf festen Nährböden ist äußerst zart, Gelatine wird verflüssigt, sie sind weiter zu studieren.

Endlich fand sich im zweiten Versuch ebenfalls in großer Menge im Gegensatz zu Holliger auch diesmal eine gasbildende Art.

4. Bacterium acidi lactici. Dasselbe verhielt sich in allen Kultureigenschaften analog coli und ist deshalb, wenn man von der Unbeweglichkeit absehen will, mit dem Bacterium coli commune, also auch nach unsern obigen Ausführungen mit vielen im Sauerteig sonst gefundenen weißen Gasbildnern vollkommen identisch. Es bestätigt sich also hier das Vorkommen der fakultativ anaeroben Gasbildner im Würzburger Sauerteig, diesmal (zum erstenmal), in einer unbeweglichen Form.

Hefe fehlte vollständig bei uns wie bei Holliger.

Fragen wir nun nach der Bedeutung der durch anaerobe Kultur gewonnenen Arten. Da kräftige Säurebildner darunter sind, so leuchtet es ohne weiteres ein, daß sie — speziell Streptococcus Güntheri und die Sauerteigstäbchen bei ihrem konstanten und massenhaften Vorkommen im Teig — geeignet sind, eine Hauptrolle bei der Säuerung des Brotteiges zu spielen, wie dies Holliger von den Sauerteigstäbchen durch Gärversuche unter Anwendung von Reinkulturen bewiesen hat. Ob daneben noch andere Mikroorganismen, speziell die Gas- und Säurebildner der Koligruppe, ob nicht vielleicht auch sporentragende Arten an der Säurebildung im Brotteige beteiligt sind, müssen weitere Untersuchungen mit Berücksichtigung qualitativer und quantitativer Analysen der gebildeten Säuren lehren.

Jedenfalls ist es ein Verdienst von Holliger neben den von Wolffin und Wolff festgestellten schwachen Säurebildnern auf schwieriger zu züchtende, energischer wirkende Arten aufmerksam gemacht zu haben, denen niemand eine wichtige Rolle bei der Teigsäuerung bestreiten wird.

Meine Resultate besagen etwa kurz zusammengefafst:

1. Es finden sich in Mehlteig und Sauerteig neben typischem Bact. coli, ein Bact. coli albidoliquefaciens und luteoliquefaciens, welche alle drei lebhaft Gas und im bescheidenen Mafse Säure bilden. Aufserdem ist ein schwach Säure bildender, gelber, verflüssigender, Coli nahestehender Organismus häufig (»gelber Säurebildner«), der aber kein Gas bildet.
2. Mehlteiglockerung kann durch alle drei Gasbildner hervorgebracht werden und wird in praxi durch sie hervorgebracht.
3. Bei der praktischen Teiglockerung durch Sauerteig dürften die Bakterien in Ausnahmefällen mitwirken können, die Hauptarbeit besorgen, wie schon Wolffin aussprach, die Hefen jedenfalls.
4. Säurebildung kommt den besprochenen Organismen nur in bescheidenem Mafse zu, die wichtigsten Säurebildner hat erst Holliger gefunden.

Zum Schlufs sei es mir gestattet, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann, Direktor des Hygienischen Instituts, für die Anregung zu dieser Arbeit und das derselben stets entgegengebrachte rege Interesse sowie seine fördernde Mithilfe bei der Deutung und Darstellung der Ergebnisse meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Die epidemiologische Bedeutung der plötzlichen Todesfälle von an latentem Abdominaltyphus leidenden Menschen.

Von

Prof. Dr. **Alois Velich.**

(Aus dem k. k. Institute für gerichtl. Medizin des Prof. Dr. J. Reinsberg.)

In neuester Zeit nimmt die Überzeugung überhand, dafs die zur Bekämpfung des Typhus bisher in Anwendung gebrachten Mittel nicht ganz entsprechend sind.

Zur Zeit wird nämlich fast ausschliefslich das Trinkwasser als Quelle der Infektion betrachtet und die Tätigkeit der Sanitätsorgane beschränkt sich regelmäfsig auf die Untersuchung des von den Kranken als Trinkwasser benutzten Wassers und auf die eventuelle Schliefsung der verdächtigen Brunnen oder doch der ganzen Wasserleitung.

Hat der Erkrankte die Angabe gemacht, dafs er Flufswasser, sei es auch nur ein einziges Mal, getrunken, oder dafs er gebadet, sich blofs den Mund mit Flufswasser ausgespült hat, so war damit die Ätiologie definitiv entschieden, das Gewissen des nach der Ursache der Infektion forschenden Arztes beruhigt, ohne dafs man sich zu einer weiteren Nachforschung in dieser Richtung hin veranlafst gefühlt hätte.

Hat jedoch der Erkrankte überhaupt kein ungekochtes Wasser weder zum Trinken, noch zum Waschen oder Mundausspülen benutzt, hat derselbe selbst sein Efsgeschirr mit abgekochtem Wasser reinigen lassen, so hat man den Ursprung

der Erkrankung in einer Infektion der von dem Erkrankten genossenen Milch oder des von ihm getrunkenen Bieres mit Wasser gesucht.

Es sind jedoch Fälle festgestellt worden, für welche kein einziger von den erwähnten ätiologischen Momenten zur Geltung gebracht werden konnte. Der Arzt sah sich der ersten Typhuserkrankung gegenüber in einem Orte, wo sie schon lange nicht vorkam. Wo war der Ursprung dieser Infektion? Der Kranke hat den Ort vor seiner Erkrankung nicht verlassen, in der Umgebung war gleichfalls keine Typhuserkrankung konstatiert worden. Eine Infektion durch Wasser oder Milch konnte ausgeschlossen werden.

Derartige Fälle führten und führen den Arzt zu dem Schlusse, dafs es noch andere Quellen der Typhusinfektion geben müsse, nachdem es nicht angeht, der letzteren ausschliefslich das Wasser zu bezichtigen.

In den derartig gestalteten Stand der Dinge griff nun die Hand R. Kochs ein, welche uns bereits so viele Überraschungen bereitet hat. Durch seine, in dem wissenschaftlichen Senate der Kaiser Wilhelms-Akademie gehaltene Rede stellte sich dieser Kontagionist selbst auf den äufsersten Flügel der Gegner der Trinkwassertheorie. Indem Koch nämlich die Bekämpfung des Typhus besprach, wies er auf den Umstand hin, dafs sämtliche Typhuserkrankungen, wie sich in den vom Typhus verseuchten Gegenden gezeigt hat, durch Kontakt entstanden sind, d. h. dafs die Infektion stets direkt von Mensch zu Mensch übertragen wurde. Als Hauptquelle der Typhusinfektion gilt nunmehr Koch der Mensch selbst.

Aus seinen Beobachtungen deduziert Koch, dafs es durch gehörige Isolation der an Typhus Erkrankten, durch Desinfektion ihrer Exkremente und durch Entlassung der Kranken erst, nachdem durch eine dreimalige (!) Untersuchung weder in den Stuhlentleerungen noch im Harne derselben die Anwesenheit von Typhusbazillen erwiesen werden konnte, gelingen wird, den Typhus zu verbannen, wie dies auch in den Dörfern bei Trier die von Koch eingesetzte Kommission zustande gebracht hat.

Koch ist sich seiner Sache wiederum so sicher, dafs er erklärt, auf diese Weise den Typhus aus ganz Deutschland bis auf die aus der Fremde eingeschleppten Fälle zu verbannen.

Doch nicht nur Typhus, sondern auch Cholera, Dysenterie u. a. können nach Koch in derselben Weise gänzlich ausgejätet werden.

Wo bleibt nunmehr bei diesem neuen Stande der Dinge die praktische Bedeutung der Arbeiten, die über den Einflufs des Trinkwassers auf die Verbreitung von Typhus- und Choleraepidemien aus der Kochschen Schule hervorgegangen sind?

Glücklicherweise kann man doch nicht jene der Gewissenlosigkeit bezichtigen, welche bei den klar bewiesenen Tatsachen des gegenseitigen Zusammenhanges zwischen dem Auftreten des Typhus und der Wasserversorgung beharren. Im Gegenteile! Die überzeugenden Fälle von durch Wasser verschuldeten Typhusepidemien lassen sich in keiner Weise wegdisputieren.

In ordentlichen Wasserleitungen besitzen wir eine sichere Bürgschaft, dafs wenigstens von dieser Seite keine Gefahr droht.

Kann jedoch mit ähnlicher Verläfslichkeit auch die von Koch angegebene Weise der Typhusbekämpfung angewendet werden? Kann eine Isolation aller Kranken durchgeführt werden? Entschieden nicht! Wenigstens solange nicht, solange es nicht möglich ist, von allen Menschen bei einer Typhusepidemie vermittelst irgendeiner verläfslichen Methode zu konstatieren, dafs sie nicht an Typhus leiden.

Koch führt selbst in dem obenerwähnten Vortrage an, dafs in von Typhus verseuchten Gegenden Typhuserkrankungen bei Kindern vorkommen, die keinem Arzte angezeigt, keiner Therapie unterworfen werden und bei welchen keine Schutzmafsregel zur Verhinderung der Verbreitung der Infektion ergriffen wird. So entdeckte die Kommission in Waldweiler bei Trier 72 Typhuserkrankungen, wovon 52 Kinder betrafen, von denen aber nur 3 amtlich angezeigt waren.

Koch sieht solche Kinder als Verbreiter der Infektion an. Dies soll hauptsächlich in der Weise geschehen, dafs die

erkrankten Kinder, deren Krankheit manchmal so leicht ist, dafs sie sich selbst im Freien bewegen, ihren Stuhl in der Nähe der Häuser entleeren und Typhusbazillen enthaltende Teile desselben auf den Füfsen mit nach Hause bringen. Diese Erklärung ist, wie klar zutage liegt, gänzlich unzulänglich.

Doch ist selbst die Entdeckung solcher von Koch erwähnter leichterer Typhuserkrankungen von Kindern nur schwer auszuführen und würde seinem Plane, den Typhus durch Isolation der Kranken zu bekämpfen, sehr grofse Hindernisse bereiten.

Doch diese Hindernisse erscheinen in der Praxis tatsächlich noch gröfser, ja man mufs sie als unüberwindlich bezeichnen, da, wie aus unseren nachstehend mitzuteilenden Fällen geschlossen werden mufs, eine Reihe von Menschen an Typhus leidet und selbst von demselben geheilt wird, ohne dafs sie oder jemand aus ihrer Umgebung auch nur eine Ahnung hätten, dafs sie an Typhus oder überhaupt irgendwie krank sind.

Dieser Schlufs geht aus den nachfolgenden Fällen plötzlichen Todes an Abdominaltyphus hervor. Die im Texte des Prof. Dr. Reinsberg, dem ich für die gütige Überlassung dieser Fälle meinen pflichtschuldigen Dank sage, zur Sektion gelangt sind.

Im ganzen wurden in dem erwähnten Institute vom Jahre 1887—1903 36 Fälle von Abdominaltyphus konstatiert, bei welchen während des Lebens keine diesbezügliche Diagnose gestellt worden ist.

Ich führe im nachfolgenden Auszüge aus den Sektionsprotokollen an:

1. 17. III. 1887. J. B., 16 Jahre alter Raseurgehilfe, kehrte von der Arbeit zurück und gegen 9 Uhr abends starb er plötzlich. Bei der Sektion wurde ein akutes Lungenödem vorgefunden. Die zweizipfelige Klappe des linken Ventrikels war beträchtlich verdickt, die Sehnen, sowie die Muskulatur der Trabecularmuskeln sehr mächtig. Die Muskulatur des linken Herzens mächtig (2 cm), stellenweise schimmerten graugelb gefärbte Muskelfasern durch, die halbmondförmigen Aortaklappen verdickt. Die Milz wies akute Schwellung auf, die Plaques, sowie die solitären Follikel des Dünn- und Dickdarmes waren bedeutend geschwellt und über die Oberfläche der Schleimhaut prominierend.

2. 27. XII. 1889. J. V., 14 Monate alter Sohn einer Witwe, starb ohne ärztliche Behandlung. Bei der Sektion fand man Kehlkopf- und Luftröhrenentzündung. Das Herz war beträchtlich vergröfsert, die zweizipfelige Klappe bedeutend verdickt, die Milz bedeutend vergröfsert, im Dünndarm befanden sich vergröfserte Plaques und in dem unteren Teile desselben Defekte mit unebenen Rändern und hyperämischem Grunde.

3. 14. VII. 1890. T. S., 13jähriger Schüler, Sohn eines Taglöhners, ist vor 6 Wochen im Turnsaale zu Boden gefallen, worauf er aber wieder die Schule besuchte. 6 Wochen später ist er nach kurzer Krankheit gestorben. Bei der Sektion wurde gesucht, ob der Tod mit dem erlittenen Unfall in kausalem Zusammenhange steht. Man fand aber: beiderseitige lobuläre Entzündung und Ödem der Lunge, Vergröfserung des Herzens, Verdickung der zweizipfeligen Klappe, namentlich an den freien Rändern, ferner akute Milzschwellung, Schwellung sämtlicher Plaques und der solitären Follikel im Dünndarm mit Verschwärung und hämorrhagischer Durchtränkung derselben, aufserdem eine diphtherische Entzündung der Harnblase.

4. 30. VII. 1890. F. Z., 8jähriger Schüler. Derselbe erkrankte am 30. VII. abends plötzlich, es zeigte sich Erbrechen und Diarrhöe, wobei der Schüler jedoch bis in die letzte Stunde herumgehen konnte; in derselben Nacht starb er. Die Sektion wies eine auffallende Schwäche des Herzmuskels, Milzschwellung, Schwellung des lymphatischen Apparates des Dünndarms, sowie Vergröfserung der Mesenterialdrüsen nach.

5. 29. IV. 1890. G. J., 21jähriger Tischler, ist in der Fabrik plötzlich erkrankt und wurde tot in das Krankenhaus gebracht. Bei der Sektion wurde nachstehendes sichergestellt: Das Epikardium erwies sich stellenweise sehnig verdickt, die zweizipfelige Klappe sehr mächtig, die Sehnen dicker, die Trabecularmuskeln bindegewebig verändert, im Herzmuskel sichtbare Bindegewebsstreifen (sichtbare Überreste von überstandener Myo- und Perikarditis), ferner akute Milzschwellung, Hyperämie der Dünndarmschleimhaut, Schwellung der Plaques, sowie der solitären Follikel.

6. 6. III. 1891. Ein unbekanntes, etwa 22 Jahre altes Frauenzimmer wurde am 6. III. 1891 in Malé Holešovice aus der Moldau gezogen. Dasselbe war blofs in ein Nachtkleid gekleidet. Es wurde Verdacht auf Mord gehegt. Bei der Sektion fand man aber den Herzmuskel brüchig, akute Milzschwellung, im Dünndarm, unweit von der Bauhinischen Klappe eine Gruppe von charakteristischen typhösen Geschwüren.

7. 8. VI. 1891. J. Z., 3 Monate altes uneheliches Kind, welches aus unbekannter Ursache gestorben ist. Bei der Sektion wurden Milzschwellung, Infiltration und Hyperämie der Plaques, Defekte in den Plaques und in der Darmschleimhaut konstatiert.

8. 2. VI. 1892. Ein 27 Jahre alter Kellner. Derselbe befand sich im Krankenhaus mit einer Kopfwunde und starb vermutlich an Hirnhautentzündung. Bei der Sektion fand man: lobare Lungenentzündung, rechtsseitiges Lungenödem, embolische Nekrosen des Herzmuskels, der Nieren, der Bauchspeicheldrüse. Insuffizienz der zweizipfeligen Klappe. Fettinfiltration der Leber. Milzschwellung. Typhöse Geschwüre im Dünndarm.

9. 20. VII. 1892. K. A., 26jährige Taglöhnersfrau. Dieselbe wurde in die psychiatrische Klinik in einem sehr aggressiven Zustande nach der Geburt aufgenommen. Sie war fieberlos und starb plötzlich. Der Herzmuskel zeigte sich gelblichbraun, brüchig, das Epikardium sehnig verdickt. Weiterhin ergaben sich: Milzschwellung, Nekrosen in den Nieren, eine Menge von Geschwüren im Dick- und Blinddarme. (Die Typhusbazillen in der Milzpulpa wurden nachträglich nachgewiesen. Es handelte sich also um Kolotyphus.)

10. 28. IX. 1892. Sch. J., 66 Jahre alter israelitischer Privatier. Derselbe starb plötzlich in seiner Wohnung. Durch die Sektion wurde konstatiert: Pachymeningitis chronica, Leptomeningitis chronica, Hydrocephalus externus et internus chronicus, Lungenemphysem, eine beträchtliche Dilatation und Hypertrophie der beiden Herzkammern, die dreizipfelige Klappe bindegewebig verdickt, die halbmondförmigen Aortaklappen verkürzt. Das Endokardium bindegewebig verdickt, der Herzmuskel fettig degeneriert, gelbbraun, stellenweise gelb, brüchig, Atherom der Aorta, der Kranzarterien des Herzens, sowie des Herzens selbst. Akute Milzschwellung, die solitären Follikel des unteren Dünndarmabschnittes geschwellt, vergröſsert, die Schleimhaut dunkelrot, die Ränder der Plaques geschwollen, hyperämisch, stellenweise Defekte in den Plaques. Auſserdem parenchymatöse Degeneration der Leber und der Nieren und rechtseitige Pyelonephritis purulenta.

11. 8. XI. 1892. K. J., 24jähriger Bahnhofarbeiter, ist um 3 Uhr in der Frühe plötzlich gestorben. Der Sektionsbefund war: Das Epikardium bindegewebig verdickt, beide Herzkammern erweitert, die zweizipfelige Klappe verdickt, der Herzmuskel der linken Herzkammer von einer bis 3,5 cm betragenden Dicke. Akute Milzschwellung. Schwellung und Vergröſserung der Follikel, graugelbe Infiltration der Plaques, in einem derselben ein sichtbarer Defekt.

12. 14. V. 1893. K. S., 25jähriger Agent. Derselbe wurde in einer Badewanne tot aufgefunden. Im Wasser befand sich eine Menge von Kot und von erbrochenem Mageninhalt. Verdacht auf Vergiftung lag vor. Die Gutachtung über die Todesursache lautete: Die unmittelbare Todesursache war die Lähmung des krankhaft veränderten Herzens. Das linke Herz war beträchtlich vergröſsert, die zweizipfelige Klappe sowie die halbmondförmigen Aortaklappen verdickt, der Herzmuskel chronisch entzündet. Die Herzlähmung wurde durch den Abdominaltyphus verursacht, denn man fand weiter akute Milzschwellung, Schwellung der Plaques und der Follikel des Dünndarms und an dem Übergange des Dünndarms in den Dickdarm eine Menge von Geschwüren.

13. 9. IX. 1893. Z. V., 13jähriger Schüler, starb plötzlich unter Krämpfen und Erbrechen. Bei der Sektion fand man eine chronische Hirnhautentzündung, lobuläre Lungenentzündung der beiden Seiten, serofibrinöse Brustfellentzündung, Lungenödem. Akute Milzschwellung. Vom Duodenum abwärts beträchtliche Schwellung der Plaques und der Fol-

likel. In der Nachbarschaft des Dickdarms beträchtliche Markinfiltration der Plaques.

14. 4. II. 1894. L. R., 53 jährige Jüdin. Dieselbe starb plötzlich auf der Stiege. Die Sektion wies auf: Chronische Entzündung der harten Hirnhaut, mäfsige chronische Entzündung der weichen Hirnhäute, bedeutender Hydrocephalus externus, Lungenödem, mäfsige Nierenatrophie, Blutergüsse im Unterhautzellgewebe durch den Fall verursacht (mit dem Tode aber nicht kausal zusammenhängend). Das Epikardium getrübt, verdickt, die zweizipfelige Klappe verdickt. Akute Milzschwellung. Beträchtliche Schwellung der Plaques des Dünndarms, in demselben buchtförmige Geschwüre mit einem teils graugelben nekrotischen, teils schon gereinigten Boden.

15. 12. II. 1894. M. B., 25 jähriger Raseurgehilfe. Derselbe starb plötzlich kurz nach Mitternacht beim Verlassen einer Weinstube. Sektionsbefund: Chronische Entzündung der weichen Hirnhäute, Hydrocephalus internus chronicus, Lungenhyperämie, nekrotische Veränderungen in der Luftröhre. Das Herz fettig degeneriert, der Herzmuskel der linken Herzkammer hypertrophisch; die dreizipfelige Klappe verdickt. Akute Milzschwellung, beträchtliche Schwellung der Follikel und Plaques in den unteren Partien des Dünndarms. Cyanose der Nieren und der Leber. (In der Milz wurden durch bakteriologische Untersuchung die Typhusbazillen konstatiert.)

16. 5. III. 1894. B. F., 44 Jahre alte Witwe, starb plötzlich in der Nacht. Durch die Sektion konstatierte man: Chronische Entzündung der harten Hirnhaut, Hydrocephalus internus chronicus, chronische produktive Brustfellentzündung, chronische Tuberkulose der Lungenspitzen, schieferartige Induration und Ödem der Lungen. Eine sehr bedeutende Insuffizienz der zweizipfeligen, der dreizipfeligen Klappe, sowie der halbmondförmigen Aortaklappen. Bedeutende Hypertrophie des Herzens, namentlich der linken Hälfte desselben, zyanotische Induration der Nieren und der Leber. Milzschwellung, beträchtliche Schwellung der Plaques und charakteristische typhöse Geschwüre des Ileums.

17. 13. III. 1894. N. B., 24 Jahre alte Magd, wurde im Bett tot aufgefunden. Den vorigen Abend hat sie noch ihre Arbeit ausgeführt. Ihre zwei Vorgängerinnen wurden mit Bauchtyphus ins Krankenhaus geliefert. Durch die Sektion konstatierte man eine bedeutende Vergröfserung des Herzens (12,5—10,5—5 cm). Die zweizipfelige Klappe ist verdickt, hat verkürzte Sehnen, die halbmondförmigen Aortaklappen sind verkürzt, deren Intima getrübt, der Herzmuskel brüchig, fettig degeneriert. Milzschwellung. Infiltration der Plaques im ganzen Ileum. Aufserdem beiderseitige produktive Brustfellentzündung, sowie eine akute Nierenentzündung (Glomerulonephritis acuta).

18. 11. IV. 1895. K. V., 43 Jahre alter Aufseher der Verzehrungssteuer. Derselbe kam vom Dienste nach Hause, klagte über Kurzatmigkeit und Schmerzen in der Herzgegend und starb plötzlich. Bei der Sektion fand man fettige Degeneration und braune Atrophie des Herzmuskels, Arteriosklerose der Kranzarterien des Herzens, Verkürzung der halbmondfömigen Aortaklappen, Verdickung der zweizipfeligen Klappe, beiderseitige

produktive Brustfellentzündung, Lungenödem, chronische Tuberkulose der beiden Lungenspitzen, chronischen Katarrh des Magens, des Rachens, des Kehlkopfes und der Luftröhre. Interstitielle Entzündung der Leber, eine vorgeschrittene chronische Nierenentzündung. Akute Milzschwellung, bedeutende Schwellung der Mesenterialdrüsen, Schwellung und Markinfiltration, hie und da auch hämorrhagische Durchtränkung der Plaques im Ileum.

19. 29. IV. 1894. C. J., 29jährige Kaufmannsgattin. Dieselbe war an einer »Hirnhautentzündung« 4 Monate krank. Sie starb, nachdem sie in das Krankenhaus gebracht worden war, ohne dafs man die Ursache des Todes sicherstellen konnte. Durch Sektion wurde die lobuläre Lungenentzündung konstatiert, ferner akuter Katarrh des Rachens und der Speiseröhre mit zahlreichen kleinen Geschwüren, eitrige Luftröhrenentzündung, parenchymatöse Degeneration des Herzens, der Leber, der Nieren. Akute Milzschwellung, viele charakteristische typhöse Geschwüre im Ileum.

20. 20. V. 1895. S. M., 20 Jahre alt. Dieselbe starb plötzlich im Hotel während des Dienstes. Bei der Sektion fand man chronische Entzündung des Herzmuskels, Hypertrophie der linken Herzkammer, Verdickung der zweizipfeligen Klappe, Verkürzung der halbmondförmigen Aortaklappen, bedeutend vorgeschrittene chronische Nierenentzündung und Induration der Leber. Akute Milzschwellung, Markinfiltration der Follikel und Plaques im Ileum, typhöse Geschwüre oberhalb der Bauhinischen Klappe.

21. 24. V. 1895. M. J., 20jähriger Schlossergehilfe. Derselbe starb plötzlich. Bei der Sektion wurde konstatiert: Milchartige Trübung der Hirnhäute, lobuläre Lungenentzündung im Stadium der roten Hepatisation, linkseitige produktive Brustfellentzündung, Lungenödem, bindegewebige Trübung des Endokardiums in der linken Vorkammer sowie in der Kammer, chronische Entzündung des Herzmuskels. Zyanotische Induration der Nieren und der Leber. Akute Milzschwellung, Infiltration sämtlicher Follikel, sowie Plaques des Dünndarms.

22. 27. V. 1895. P. J., 31jähriger Graveur. Derselbe starb plötzlich ohne vorhergehende Krankheit im Komödiantenwagen seines Vaters. Bei der Sektion wurde sichergestellt: Milchartige Trübung der weichen Hirnhäute, Erweiterung der Seitenkammern des Gehirns, Lungenödem, hämorrhagische Infiltration des Gewebes in dem linken unteren Lungenlappen und Lungenemphysem. Fettige Degeneration des Herzmuskels, Verdickung der zweizipfeligen Klappe, Verkürzung der halbmondförmigen Aortaklappen, Mandelentzündung, zyanotische Induration der Leber und der Nieren. Akute Milzschwellung. Markinfiltration sämtlicher Follikel und Plaques im Ileum.

23. 14. VII. 1895. M. L., 10jähriger Sohn eines Bauers. Derselbe starb plötzlich. Bei der Sektion fand man: Trübung der Hirnhäute, Erweiterung der Hirnkammern. Rechtseitige produktive Brustfellentzündung. Verkalkung, hie und da Verkäsung der Peribronchialdrüsen. Bindegewebige Trübung des Endokardiums der linken Herzkammer, Verdickung der zweizipfeligen Klappe. Diffuser Magendarmkatarrh. Induration der Leber und der Nieren. Akute Milzschwellung. Markinfiltration sämtlicher Follikel und Plaques im Dünndarm, namentlich oberhalb der Bauhinischen Klappe.

24. 6. IX. 1893. L. J., 30jähriger Porzellanmaler. Er befand sich seit 7. XII. 1892 in der Irrenanstalt mit der Diagnose »Dementia epileptica. Scorbutus«. Bei der Sektion wurde sichergestellt, daſs es sich bei demselben um lobuläre Lungenentzündung infolge der Aspiration des Mageninhaltes beim Erbrechen während eines epileptischen Anfalles gehandelt hat. Im Dünndarm, 20 cm oberhalb der Bauhinischen Klappe, zahlreiche erbsengroſse Geschwüre (charakteristische typhöse Geschwüre).

25. 1. XI. 1895. Ch. J., 50jähriger Vagabund. Derselbe wurde in das städtische Gefängnis gebracht; beim Verlassen des Wagens fiel er, ohne vorher über Schmerzen zu klagen, bewuſstlos zu Boden und starb eine Viertelstunde nach der Übergabe ins Gefängnisspital. Bei der Sektion wurde sichergestellt: Lobuläre Lungenentzündung und Lungenödem, beiderseitige produktive Brustfellentzündung. Vorgeschrittenes Stadium des chronischen Alkoholismus: chronische Entzündung der harten Hirnhaut sowie der weichen Hirnhäute, Hydrocephalus externus, chronische fettige Entartung des Herzmuskels, Verdickung und Verkürzung sämtlicher Herzklappen, namentlich der zweizipfeligen, Atherom sämtlicher Schlagadern, namentlich jener des Gehirns, Cirrhose und fettige Degeneration der Leber, allgemeine Fettsucht und Anämie. Akute Milzschwellung, zahlreiche geschwollene Follikel im Dünndarm und ein charakteristisches typhöses Geschwür im Ileum.

26. 17. V. 1896. K. A., 15jähriger Sohn eines Zieglers. Derselbe starb plötzlich. Er ging bis zum letzten Augenblicke herum und klagte nur manchmal über Rückenschmerzen. Bei der Sektion wurde konstatiert: abgelaufene produktive Brustfellentzündung (Pleuritis chron. adhaesiva), Erweiterung und Hypertrophie der linken Herzhälfte, Verkürzung und warzenförmige Verdickung der zweizipfeligen Klappe. Akute Milzschwellung, Schwellung und Infiltration der Plaques und Follikel im Dünndarm, Schwellung der Mesenterialdrüsen. In diesem Falle hatte man Verdacht auf eine Vergiftung oder auf Choleraerkrankung.

27. 16. VIII. 1897. H. B., 34jähriger Korrektor einer Buchdruckerei. Derselbe starb plötzlich auf dem Aborte. Bei der Sektion wurden vorgefunden: Diffuse Verdickung der zweizipfeligen Klappe, bindegewebige Trübung des Endokardiums, im Herzmuskel zahlreiche Bindegewebestreifen, derselbe stellenweise brüchig, stellenweise fest. Blutaustritte im Epi- und Perikardium, sowie im Mediastinum. Die Milz beträchtlich geschwollen. Die Follikel und Plaques im Dünndarm bedeutend geschwollen, oberhalb der Bauhinischen Klappe, sowie in derselben charakteristische typhöse Geschwüre, von denen das eine bis zur Darmserosa reichte.

28. 30. IV. 1898. K. J., 18 Jahre alter Hafnerlehrling. Er begann in der Nacht plötzlich zu erbrechen, was die ganze Nacht hindurch dauerte und starb in der Frühe. Bei der Sektion fand man: Beiderseitige produktive Brustfellentzündung, oberflächliche Nekrosen der Luftröhrenschleimhaut und warzenförmige Verdickung der zweizipfeligen Herzklappe. Akute Milzschwellung, Markinfiltration sämtlicher Follikel und Plaques des Dünndarms.

29. 5. II. 1899. K. S., 11 $^1/_2$ Jahre alter Sohn eines Zieglers. Derselbe starb plötzlich in der Nacht. Sektionsbefund war der folgende: punkt-

förmige Blutaustritte in der Haut, im Brustfell und im Epikardium. Beiderseitige lobuläre Lungenentzündung. Sehr beträchtliche Milzschwellung. Mächtige Schwellung der Plaques, besonders im unteren Drittel des Dünndarms, beträchtliche Schwellung der solitären Follikel und Mesenterialdrüsen.

30. 28. X. 1899. V. M., 7 Monate alte Dienerstochter. Wurde ambulatorisch auf eine nicht bekannte Krankheit behandelt und starb, ohne dafs eine bestimmte Diagnose gestellt worden wäre. Bei der Sektion fand man lobuläre Lungenentzündung, akute Milzschwellung und Markinfiltration der Plaques im unteren Teile des Dünndarms, sowie Schwellung sämtlicher Mesenterialdrüsen.

31. 5. III. 1901. V. J., 21jähriges Frauenzimmer ohne Beschäftigung. Dasselbe wurde im Kollaps ins Krankenhaus gebracht und starb dortselbst, ohne dafs man die Todesursache feststellen konnte. Bei der Sektion wurde konstatiert: Erweiterung des Herzens, Trübung des Epikards, Verdickung der zweizipfeligen Klappe. Der Herzmuskel graubraun, hart. Wachsartige Entartung der Körpermuskulatur. Akute Milzschwellung. Zahlreiche, in den Plaques des Dünndarms und in den Follikeln des Dickdarms befindliche Geschwüre.

32. 11. II. 1902. B. L., 26jähriger Chantantschauspieler. Derselbe war noch bis in die Mitternacht im Chantant tätig, legte sich dann in seiner Wohnung, nachdem er den Abort verlassen hatte, nieder, und starb plötzlich. Man hatte Verdacht auf eine Vergiftung. Bei der Sektion wurde in der Intima der Aorta hie und da eine gelbliche Platte vorgefunden, ferner fand man akute Milzschwellung, Injektion der Darmschleimhaut, mächtige Schwellung der Plaques und Follikel fast im ganzen Dünn- und Dickdarm. Typische typhöse Geschwüre in den unteren Teilen des Dünndarms, namentlich oberhalb der Bauhinischen Klappe.

33. 4. IV. 1902. P. A., 9jährige Tochter eines Bauernknechtes. Dieselbe legte sich erst am letzten Tage vor ihrem Tode nieder. Bei der Sektion fand man: Akute Milzschwellung, Schwellung sämtlicher Mesenterialdrüsen und hie und da charakteristische typhöse Geschwüre in dem unteren Drittel des Dünndarms.

34. 3. IX. 1902. A. S., 5 Jahre alter Sohn eines Bauernknechtes. Derselbe starb plötzlich. Bei der Sektion konstatierte man: lobuläre, zusammenfliefsende Entzündung der unteren Lungenlappen, abgelaufene rechtseitige Brustfellentzündung. Abgelaufener Bauchtyphus, allgemeine Anämie mit nachfolgender fettiger Entartung des Herzmuskels, der Nieren und der Leber. Vergröfserung und Tuberkulose der Bauchdrüsen und Icterus. Die unmittelbare Todesursache bildete da selbstverständlich die lobuläre Lungenentzündung.

35. 27. XII. 1902. S. R., 20jährige Wäscherin, wurde in das allgemeine Krankenhaus gebracht und starb, bevor ihre Krankheit diagnostiziert werden konnte. Bei der Sektion fand man akute Milzschwellung, Schwellung und Durchtränkung der Follikel und Plaques des ganzen Darms und geheilte Geschwüre im Dünn- und Dickdarm von typischem typhösem Charakter.

36. 31. I. 1903. H. J., 68jähriger Wächter. Derselbe wurde in einem Ziegelofen mit Brandwunden (des äufseren Teiles des rechten Oberarms, der rechten Hand und des rechten Knies) bedeckt aufgefunden, in das Krankenhaus getragen und starb unterwegs. Bei der Sektion fand man akutes Lungenödem, abgelaufene beiderseitige Brustfellentzündung und chronische Nierenentzündung. Das Herz war vergröfsert (13,5 — 11,5 — 6 cm), die Herzklappen links bedeutend verdickt und verkürzt, bei der Insertion der zweizipfeligen Klappe Kalkablagerungen, die Enden der Warzenmuskeln bindegewebig, die Intima der Aorta höckerig und stellenweise sichtbare Geschwüre und Kalkablagerungen aufweisend. Akute Milzschwellung. Oberhalb der Bauhinischen Klappe sechs ovale, mit längerem Durchmesser in der Längsachse des Darmes gelegene Geschwüre mit stellenweise vernarbten Rändern. Die Todesursache bildete in diesem Falle das akute Lungenödem bei gleichzeitig vorhandenem Herzfehler und dem in etwa vierter Woche befindlichem Typhus.

Aus den eben angeführten Fällen geht hervor, dafs eine ganze Reihe von Personen plötzlich gestorben ist, und dafs bei denselben die Sektion eine Erkrankung an Bauchtyphus ergab. Solche Fälle wurden hier 27 an der Zahl angeführt.

Die übrigen 9 Fälle betrafen Personen, welche teils sterbend ins Krankenhaus gebracht wurden (4), teils eine kürzere oder längere Zeit entweder zu Hause (2) oder im Krankenhause (2) oder in der Irrenanstalt (2) krank waren. Von diesen Personen ist eine plötzlich gestorben und bei jenen Personen, welche gestorben sind, ohne dafs man die Todesursache sicherstellen konnte, wurde erst durch die Sektion konstatiert, dafs sie mit Typhus behaftet waren.

Bei Durchsicht der angeführten Protokollauszüge tritt auffallend der Umstand in den Vordergrund, dafs von jenen 27 plötzlich Gestorbenen 25 mit schweren Herzkrankheiten behaftet waren (bedeutende Veränderungen der Klappen, Peri-, Endo- und Myokarditis, fettige Entartung des Herzmuskels, Arteriosklerose der Kranzarterien des Herzens). Nur in den 2 die Kinder betreffenden Fällen wies das Herz keine sichtbaren Veränderungen auf. Dagegen wurde bei den übrigen 9 Personen, bei welchen es sich um plötzlichen Tod nicht gehandelt hat, ein Herzfehler nur in 4 Fällen nachgewiesen.

Aufser den Herzfehlern wurden bei fast allen Leichen auch andere schwere krankhafte Veränderungen konstatiert. So wurde

vielfach Entzündung des Brustfells und der Lunge, Tuberkulose der Lunge und der Lymphdrüsen, Hirnhautentzündung, Hydrocephalus, Entzündung und Entartung der Nieren und der Leber, Arteriosklerose und Atherom sichergestellt.

In diesem Umstand, daſs sich bei fast allen hier angeführten Fällen von plötzlichem Tode beim Bauchtyphus um mit schweren Störungen des Herzens und anderer Organe behafteten Menschen gehandelt hat, liegt die groſse epidemiologische Bedeutung dieser Fälle.

Wenn man von diesem Standpunkte aus unsere Fälle in Erwägung zieht, so muſs man notwendig zu dem Schlusse kommen, daſs es nur zufällige Beispiele jener groſsen Zahl der Fälle von verborgen verlaufendem Bauchtyphus sind, Beispiele, welche nur deshalb zu unserer Kenntnis gelangen, weil die betreffenden Personen neben dem Typhus auch noch an einem schweren Herzfehler oder auch an anderen sehr schweren Krankheiten gelitten haben. Diese Verbindung von Krankheiten führte in unseren Fällen zum Tode, ja bei der Mehrzahl der hier angeführten Personen kann man sagen, daſs hauptsächlich die angeführten Nebenkrankheiten den Tod herbeigeführt haben, und daſs diese Personen hätten genesen können, wenn sie mit den letzteren nicht behaftet gewesen wären, so daſs niemand überhaupt erfahren hätte, daſs sie an Bauchtyphus gelitten haben. Die obenerwähnten Fälle zeigen ferner, daſs der vollkommen latent verlaufende Bauchtyphus nicht so selten ist, wie man bis jetzt meint. Sie werfen ein wesentlich anderes Licht auf die Bedeutung der plötzlichen Todesfälle an perforativer Bauchfellentzündung bei latentem Bauchtyphus, welche als eine groſse Seltenheit angeführt werden. Bei diesen handelt es sich um sonst ganz gesunde Personen. wie dies in zwei besonders charakteristischen Fällen, die ich hier anführen will, der Fall war. In einem derselben handelte es sich um ein Fräulein, welches inmitten einer Tanzunterhaltung auf der Sophieninsel in Prag zu Boden stürzte und starb[1]), in dem anderen um einen jungen

1) Nach einem Vortrage des Hofrats Prof. Dr. Eiselt.

Arbeiter aus »Nová Jáma«, welcher in einem Gasthaus aus Scherz mit seinen Kameraden rang und zu Boden geworfen wurde. Nach Hause gekommen, verstarb[1]) er in kurzer Zeit.

In beiden Fällen wurde bei der Sektion perforative, durch Durchbruch eines typhösen Geschwüres verursachte Bauchfellentzündung konstatiert.

Aus unseren Fällen mufs man schliefsen, dafs es nicht blofs vereinzelte Fälle sind (in einem einzigen Jahre 1895 wurden im Institute des Prof. Reinsberg sieben plötzlich an Bauchtyphus verstorbene Personen seziert), bei welchen der Typhus vollkommen latent verläuft, wobei die betreffenden Personen ihrer Beschäftigung nachgehen, öffentliche Lokale besuchen, mit vielen und vielen Menschen in Berührung kommen, ohne eine Ahnung davon zu haben, dafs sie in ernster Weise noch weniger aber, dafs sie typhuskrank sind.

Dabei handelt es sich nicht um beginnende Erkrankungen. Die Mehrzahl unserer Fälle bilden im Gegenteile Personen, welche sich in der dritten Krankheitswoche befinden, und zwar 14 an der Zahl (10 von ihnen sind plötzlich gestorben); in der ersten Krankheitswoche befanden sich 11 (mit 9 plötzlichen Todesfällen), in der zweiten Woche 6 (4 plötzliche Todesfälle), in der vierten Woche 5 Personen (3 plötzliche Todesfälle). In einem plötzlichen Todesfalle handelte es sich sogar um einen schon ganz abgelaufenen Typhus.

Die richtige Schätzung unserer Fälle zwingt uns zum Schlusse, dafs zur Zeit einer Typhusepidemie eine ganze Reihe typhuskranker Menschen sich frei unter den anderen, gesunden Menschen bewegt und Reisen unternimmt und somit den Ansteckungsstoff in andere Orte verbreiten kann, ohne dafs sie irgendeiner Kontrolle unterworfen werden könnte.

Wir gaben der Anschauung Ausdruck, dafs aus unseren Fällen geschlossen werden kann, dafs vielfache ähnliche sonst gesunde Menschen betreffende Fälle existieren. Es mufs das

1) Nach persönlicher Mitteilung des Herrn Kreisphysikus Dr. Novotný in Troppau.

aus unseren Sektionsbefunden geschlossen werden, aus welchen hervorgeht, dafs man von der Erkrankung dieser Personen überhaupt keine Kenntnis bekommen hätte, wenn sie neben dem Typhus nicht auch an einem Herzfehler oder an anderen schweren Krankheiten gelitten hätten, welche den Tod herbeigeführt haben. Wäre dies nicht der Fall gewesen, so hätten sie den Typhus überstanden. Übrigens befindet sich auch unter unseren Fällen ein solcher, in welchem der Typhus schon vollkommen geheilt war und das Individuum infolge einer anderen Krankheit plötzlich gestorben ist.

Und ebenso wie diese Personen von ihrer Erkrankung an Typhus nichts wufsten, so mufs man schliefsen, dafs es eine ganze Reihe von sonst gesunden Menschen gibt, welche, ohne zu wissen, dafs sie an Typhus erkrankt sind, denselben verbreiten, überstehen, ohne dafs jemand davon weifs und wissen kann.

Aus unseren Fällen geht klar hervor, wie vielfach die Ansteckungsgefahr ist, mit welcher solche Menschen ihre Umgebung bedrohen.

So betrafen einige von unseren Fällen einen Aufseher der Verzehrungssteuer, einen Kassengehilfen, einen Schlosser, einen wandernden Graveur, einen Bahnhofarbeiter, einen Ofenmacherlehrling, einen Ziegeleiarbeiter, einen reisenden Agenten, einen Korrektor einer Buchdruckerei, einen Schauspieler, ein Hoteldienstmädchen, ein Dienstmädchen in einem privaten Hause, sechs Schüler; alle diese Personen wurden plötzlich vom Tode nach der Rückkehr von der Arbeit, aus der Schule, aus einem Vergnügungslokal, beim Baden in öffentlichen Bädern ergriffen, also insgesamt unter Umständen, welche zeigen, mit wie zahlreichen Menschen diese Personen fast bis zum letzten Augenblicke verkehrten, Nahrungsmittel betasteten, dieselben vorbereiteten usw.

Bei der sichergestellten Tatsache, dafs nicht nur mit dem Kote, sondern auch mit dem Harne unzählige Typhuskeime den Körper verlassen, bei einer Art von Harnentleerung bei manchen Menschen sowie bei ungenügender Reinlichkeit kann

man sich vorstellen, dafs zum Beispiel auch die auf der Hand eines solchen Menschen haften gebliebenen Harnspuren beim Handreichen, beim Sortieren und Betasten von Gebäck, Obst und ähnlichem die Ansteckung anderer Menschen verursachen können.

Auch Infektionskeime enthaltende Kotspuren können auf den Fingern jener Personen haften bleiben, welche das Bedürfnis der Benutzung eines ordentlichen Klosettpapiers nicht einsehen.

Dafs es selbst auch solche Personen gibt, welche das Papier überhaupt durch die eigenen Finger ersetzen, dafür sprechen überzeugend die Wände allgemein zugänglicher Aborte.

An latentem Typhus leidende Personen können also nicht nur das Wasser und die Nahrungsmittel infizieren, sondern sie können die Infektion auch durch direkte Berührung verursachen. Durch solche Personen kann, wie oben erwähnt, der Typhus auch in andere, oft sehr entfernte Orte übertragen werden.

Agenten, Hausierer, Touristen, Mitglieder von Wandertruppen, wandernde Handwerker, von einem Ort zum anderen ziehende Arbeiter, Vagabunden können den Typhus auch in einen Ort übertragen, in welchem von dieser Krankheit jahrelang nichts zu hören war und in dessen weiterer Umgebung diese Krankheit ebenfalls nicht herrscht. Solche Personen kommen und verchwinden wieder in scheinbar vollkommener Gesundheit, lassen aber trotzdem die Ansteckung zurück. Wie kann dann die Ursache des Typhusausbruches, wie kann der Ursprung desselben in solchen Fällen entdeckt werden?

Kann also unter solchen Verhältnissen von einer Isolation sämtlicher Typhuskranker gesprochen werden? Kann behauptet werden, dafs durch Isolation der Typhuskranken der Typhus unterdrückt werden kann?

Man betrachtet entschieden die Isolation als eine von den wichtigen Mafsregeln gegen die Verbreitung der Ansteckung, doch darf man keineswegs die Erfolge der bisherigen Erfahrungen übergehen und mufs die richtige Durchführung der anderen Schutzmafsregeln überwachen.

Es bleibt nichts anderes übrig, als neben der Isolierung von bekannten und der Erforschung zugänglichen Typhusfällen an einer den hygienischen Ansprüchen allseitig entsprechenden Wasserversorgungsweise festzuhalten, die Milch- und andere Nahrungsmittelgeschäfte zu überwachen, die Betastung von Gebäcken, Obst-, Selcherwaren und ähnlichem mit bloſsen Händen zu untersagen, jedes Obst vor dem Genusse ordentlich abzuwaschen, ungekochte Gemüsearten und Speisen zu meiden, den Menschen unnötig Hände nicht zureichen, die möglichst gröſste Reinlichkeit derselben zu beachten und dieselben vor jedem Essen zu waschen.

Experimentelle Beiträge zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. I. Teil.

Von

Dr. **Engels**,

früher I. Assistent des Kgl. hygienischen Instituts, z. Zt. kommissarisch beauftragt mit der Leitung der bakteriologischen Untersuchungsstation bei der Kgl. Regierung zu Stralsund.

(Aus dem Kgl. hygienischen Institut zu Posen.)

In der Wohnungsdesinfektionsfrage beansprucht heute die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd unser gröfstes Interesse. In der Tat ist wohl kaum ein Desinfektionsmittel der neueren Zeit so oft einer Nachprüfung unterzogen worden und hat eine so grofse Anzahl wissenschaftlicher Arbeiten ins Leben gerufen wie gerade der Formaldehyd, so dafs dieselben wohl den Umfang der Literatur über andere Desinfektionsmittel bei weitem übertreffen. Es ist ja sehr begreiflich, dafs man immer wieder von neuem darauf ausgeht, als Desinfiziens für Wohnräume ein Gas zu benutzen, eingedenk der grofsen Vorteile, welche die Anwendung eines Desinfektionsmittels im gasförmigen Zustande bietet. Das Gas vermag fast gleichmäfsig von seiner Entwicklungsstelle aus im ganzen Raume sich auszubreiten und wirkt auch dort desinfektorisch, wo die Applikation eines flüssigen Desinfektionsmittels schwer oder gar nicht möglich ist. Schon glaubte man, die detaillierte Behandlung der infizierten Gegenstände vollkommen entbehren zu können. Jedoch schon mit den zuerst zur Desinfektion von Räumen benutzten Gasen, dem Chlor, Brom, der schwefligen Säure und den Salzsäuredämpfen

machte man bei Nachprüfung der Desinfektionswirkung so schlechte Erfahrungen, dafs man genötigt war, diese genannten gasigen Desinfizientien für die Wohnungsdesinfektion fallen zu lassen. Um so mehr konnte es freudig begrüfst werden, als die keimtötende Wirkung des Formaldehyds, also wiederum eines Gases, bekannt wurde und dieselbe den zahlreichen Nachprüfungen im wesentlichen standzuhalten vermochte. Und so sehen wir, dafs die Formaldehyddesinfektion bei uns in Deutschland immer mehr sich einbürgert. Die alten Vorurteile gegen die Wohnungsdesinfektion schwinden im Volke, seitdem die Hygieniker sich angelegen sein lassen, für die Desinfektion der Wohnräume ein geschultes Personal durch Ausbildungskurse und Wiederholungskurse heranzubilden. Immerhin dürfen wir uns nicht verschweigen, dafs wir in der Formaldehyddesinfektion keine Idealdesinfektion besitzen, wie wir weiter unten noch des Näheren besprechen werden. Auch heute noch gibt es eine Reihe von Autoren, welche den Formaldehyd geradezu für untauglich zur Desinfektion von Räumen halten, aus Gründen, auf die ich ebenfalls noch zurückkommen werde. Und wohl nur dem Einflufs dieses Autoren war es zu verdanken, dafs noch vor 3 Jahren der in Como tagende Kongrefs einstimmig den Beschlufs fafste:

»Der in Como tagende Kongrefs der italienischen Hygieniker hält dafür, dafs sich bei den öffentlichen Desinfektionen von Räumen das Ätzsublimat bis jetzt nicht durch den Formaldehyd ersetzen lasse, da dieses eine zu unzuverlässige Wirkung hat.«[1])

Trotzdem hat die Formaldehyd-Zimmerdesinfektion im Laufe der Jahre eine solche Verbreitung gefunden, dafs es angebracht ist, wenigstens mit einigen Worten auf die mannigfachen Apparate zur Erzeugung des Formaldehydgases einzugehen. Es kann gewifs nicht meine Aufgabe sein, auf den Formaldehyd und seine Eigenschaften in physikalischer und chemischer Beziehung zurückzukommen. Wie diese, so setze ich auch die aufserordent-

1) Zentralbl. f. Bakt. etc., 1900, Bd. XXVIII, I. Abba und Rondelli, Weitere behufs Desinfektion von Wohnräumen mit dem Flüggeschen und dem Scheringschen (kombinierter Äskulap-Apparat) formogenen Apparat ausgeführte Versuche.

lich verschiedenartige Anwendung des löslichen Gases, des Formalins, als bekannt voraus, zumal die genannten Eigenschaften schon des öfteren in Dissertationen und anderen Arbeiten niedergelegt sind. Es sei deshalb nur kurz auf die Verwendung des Formaldehyds zur Konservierung von Bakterienkulturen, von Nahrungsmitteln, zur Konservierung und Härtung anatomischer Präparate hingewiesen. Nicht unerwähnt bleibe die Anwendung des Formalins und zwar vorzüglich des Formalins in Verbindung mit Seife unter dem Handelsnamen »Lysoform« als Händedesinfiziens, dessen desinfektorischen Wert als Händedesinfiziens in alkoholischer Lösung ich selbst in vielen Arbeiten festgelegt habe[1]).

Nach dem Ausfall der Versuche fühlte ich mich zu dem Schlufs berechtigt, der Kombination des Alkohols mit einem in alkalischer Lösung befindlichen Desinfektionsmittel bis jetzt den Vorzug vor allen andern Mitteln zuzuerkennen.

In der Wohnungsdesinfektion spielt der Formaldehyd heute schon eine führende Rolle. Als gasiges Desinfiziens erreicht derselbe alle Ecken und sonstigen Schlupfwinkel, welche, wie ich schon oben erwähnt habe, der Applikation eines flüssigen Desinfektionsmittels ganz oder teilweise verschlossen bleiben; Möbel, Kleidungsstücke und andere Mobilien bleiben bei gewisser Vorsicht unbeschädigt. Auch hat man keine erheblichen Gesundheitsstörungen beim Menschen durch Formaldehyd beobachtet. Der markante, penetrante Geruch kann aufs schnellste durch Neutralisation mit Ammoniak abgestumpft werden, so dafs die lästigen Einwirkungserscheinungen auf die Schleimhäute hintangehalten werden. Schliefslich gestattet der Formaldehyd mit Leichtigkeit die Desinfektion der infizierten Zimmer vor Betreten derselben, was in gesundheitlicher Beziehung bei dem nur zu oft recht unvorsichtigen Desinfektorenpersonal von wesentlicher Bedeutung ist. Dazu ist die Ausführung der Desinfektion eine so leicht zu erlernende, dafs schon ein sehr grofses Manko an Intelligenz vorhanden

1) Engels, Archiv f. Hygiene, Bd. XLV. — Ders., Zentralbl. f. Bakt. etc., 1903, Bd. XXXIII. — Ders., Ebenda, 1903, Bd. XXXIV. — Ders., Ebenda, 1903, Bd. XXXIII.

sein mufs, wenn ein Desinfektorenschüler oder eine Schülerin nicht mit dem gewünschten Erfolge den Kursus absolviert. Leider hat uns die Praxis in unserem Institute gelehrt, dafs auch solche Fälle keine Ausnahmen sind. Und mit Recht sagt Wernicke[1]: »Eine wichtige Angelegenheit für die Ausbildung ist es, dafs nur wirklich geeignete Leute für diesen so verantwortungsvollen Beruf ausgewählt werden, wenn die Tätigkeit der Desinfektoren die an die Ausbildung geknüpften Hoffnungen erfüllen soll. Es eignen sich zu Desinfektoren nur wirklich intelligente Leute, die mit Erfolg über das Wesen und die Eigenart der Seuchen unterrichtet werden können, die im Lesen und Schreiben (!), namentlich aber im Rechnen (!) bewandert sind.«

Schon im Jahre 1888 wurde von Loew und Trillat die desinfektorische Kraft der Formaldehydlösung entdeckt, und im folgenden Jahre 1889 führten Buchner und Segall[2] den Nachweis, dafs die Formaldehyddämpfe noch viel gröfsere keimtötende Eigenschaften besäfsen.

Ich übergehe die bakterizide Wirkung des löslichen Formaldehyds — in den meisten Fällen der Literatur handelt es sich um die etwa 40 proz. Lösung des Formaldehyds — und die entwicklungshemmenden Eigenschaften gegenüber Bakterien und die Giftwirkung auf das Tier, und beschäftige mich hier nur mit der Anwendung des Formaldehyds für die Wohnungsdesinfektion in Gasform.

Anwendung des Formaldehyds als Gas bei der Zimmerdesinfektion.

Die Entwicklung des gasförmigen Formaldehyds in den infizierten Räumen ist bisher auf den verschiedensten Wegen erreicht worden.

I. Entwicklung des Formaldehydgases durch Oxydation des Methylalkohols.

An erster Stelle sei die Oxydation des Methylalkohols zur Gewinnung des gasförmigen Formaldehyds zur Zimmerdesin-

1) Wernicke, Bemerkungen über die Ausbildung von Desinfektoren und über Desinfektorenschulen. Klinisches Jahrbuch, Bd. 11, 1903.

2) Buchner und Segall, Über gasförmige antiseptische Wirkungen des Chloroforms, Formaldehyds, Kreolins. Münch. med. Wochenschr., 1899.

fektion genannt. Die Apparate, welche der Oxydation des Methylalkohols dienten, hatten durchweg die Gestalt von Lampen. Der mit Hilfe eines Dochtes aufgesogene und der spontanen Verdampfung überlassene oder aber durch Erhitzen oder einen Luftstrom in Dampfform übergeführte Methyl-Alkohol wurde über ein rotglühendes Platinnetz geleitet, und dadurch der Formaldehyd entwickelt. Solche Lampen sind z. B. von Tollens[1]) angegeben, modifiziert von Robinson, von Trillat, weiter von Krell und Barthel (Modifikation von Dieudonné, Pfuhl und Krause), Cambier et Brochet, Trillat-Bardet etc.

Gewöhnlich jedoch wurden mit diesen Lampen unzureichende Resultate erzielt, weshalb man bald von dieser Methodik abkam und dieselbe nur noch zur Desodorisierung empfahl. Die schlechten Erfolge werden mit Recht auf die geringen Mengen des bei der Oxydation entstehenden Gases zurückgeführt. Wir wissen, dafs es sich bei der Oxydation des Methylalkohols nur um eine unvollständige Verbrennung handelt, dafs ca. 90% des Alkohols allein zu Kohlensäure und Wasser verbrennen. Eine auch nur einigermafsen genügende Desinfektionskraft würde man demnach erst bei Verbrauch sehr grofser Mengen Methylalkohols erzielen. Ein Teil der sich bildenden Dämpfe wandelt sich schnell in unwirksame Polymerisationsprodukte um. Ein Produkt der unvollständigen Verbrennung, welches sich ebenfalls stets bemerkbar macht, ist das Kohlenoxyd und zwar in nicht ungefährlichen Mengen von ca. 3—5%.

II. Gewinnung des gasförmigen Formaldehyds aus seinen festen Polymerisationsprodukten.

Die Polymerisationsprodukte des Formaldehyds, welche an sich desinfektorisch unwirksam sind und bei der Oxydation des Methylalkohols, wie wir gesehen haben, zum Teil die Desinfektionskraft des erzeugten Gases vernichten, sind anderseits mit Erfolg zum Ausgangsprodukte unseres Desinfiziens benutzt und

1) Tollens, Über eine Lampe zur Herstellung von Formaldehyd. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., XXVIII, 3.

zwar wiederum in mannigfacher Form. Zunächst erwähne ich die 3 Scheringschen Apparate Hygiea, Äskulap und den kombinierten Äskulap Schering. Der Formaldehyd kommt in Gestalt fester Pastillen (fest komprimiertes Trioxymethylen) zur Verwendung. Die Beschreibung dieser wohl zur Genüge bekannten Lampen mufs ich mir versagen, da sie den Rahmen dieser Arbeit überschreiten würde. Im ganzen und grofsen wird den 3 genannten Apparaten geringe Desinfektionskraft zugeschrieben, etwas mehr schon dem kombinierten Äskulap. Wird Hygiea wohl nur zu Desodorisierungszwecken angewandt, desgleichen auch der einfache Äskulap, so wird der kombinierte Äskulap Schering doch noch bei der Wohnungsdesinfektion häufig im Gebrauch gefunden. Bemerkenswert ist, dafs bei dem kombinierten Äskulap neben der Formaldehydentwicklung aus den Pastillen noch Wasser verdampft wird.

Weiterhin ist hier die Methode der Wohnungsdesinfektion mittels Karboformal ohne Apparate (System Krell-Elb) zu nennen (geprüft von Dieudonné, Enoch, Erne, Lange). Wenngleich das Prinzip derselben, den gasförmigen Formaldehyd aus seinem festen Polymerisationsprodukte, dem Paraformaldehyd, durch die Glühwärme des den Paraldehydkern umschliefsenden Prefskohlenringes allmählich frei zu machen, im höchsten Grade Anerkennung verdient, schon deshalb, weil man in der Lage ist, die einzelnen Formaldehydquellen beliebig im Raume zu verteilen, so läfst sich, wie verschiedentlich, so unlängst auch von Lange[1]) in unserem Institute festgestellt worden ist, eine sichere Desinfektion nicht auf diese Weise erreichen, selbst nicht bei gleichzeitiger Verdampfung von weit mehr Wasser, als verlangt wird.

III. Entwickeln des Formaldehyds aus seinen Lösungen.

Das ursprünglichste Verfahren bestand wohl darin, dafs man die Formaldehyddämpfe sich spontan aus Formalinlösungen entwickeln liefs, indem man eine gröfsere Reihe von Schalen mit

1) Lange, Versuche über die Wohnungsdesinfektion nach dem Verfahren von Krell-Elb. Hyg. Rundschau, 1902, XII. Jahrg.

Formalin füllte und letzteres der Selbstverdunstung überliefs. Oder es wurden 15—20 cm breite Tuchstreifen, welche in eine Formalinlösung getaucht waren, der zur Vermeidung der Polymerisation Chlorkalzium zugesetzt war, auf Hölzer gewickelt und von Wand zu Wand gespannt. Wenngleich einige Autoren über gute Erfolge mit den genannten Methoden berichten, so stand deren allgemeinen Einführung doch einmal die langsame Gasentwicklung und zweitens der Verbrauch sehr grofser Formalinmengen entgegen.

In der Annahme, durch erhöhte Bewegung die Wirksamkeit des Formaldehyds zu verstärken, ging man sodann dazu über, die Dämpfe durch ein Flügelrad, also durch einen Luftstrom, weiterhin durch einen überhitzten Wasserdampfstrahl in ständige Bewegung zu setzen und bei letzterem Verfahren, der Trillatschen Verdampfungsmethode, gleichzeitig auch den Raum mit Wasserdampf zu sättigen. Auch Kohlensäure wurde wiederholt statt des Wasserdampfstrahls benutzt. Schepilewsky entwickelte Formaldehyddämpfe durch Erhitzen einer 40 proz. Formalinlösung in einer Retorte; der nach der Verdampfung zurückbleibende Paraformaldehyd wurde noch einmal erhitzt und so wiederum in Formaldehydgas umgewandelt. Gasgemenge und Einwirkungskraft mufsten bei diesem Verfahren naturgemäfs gröfser sein als beim einfachen Verdunsten der Formalinlösungen.

Noch etwas älteren Datums ist die Anwendung des Formaldehydsprays durch Besprengen der Wände, des Fufsbodens und der Möbel mit einem Sprayapparat. Jedoch hinterläfst der Spray auf Objekten, welche Feuchtigkeit nicht vertragen, leicht Flecke und einen schlecht zu beseitigenden Geruch.

Das Gesamtresultat aller Versuche mit dem Formaldehydgase, das sich durch einfaches Verdunsten aus seinen Lösungen entwickelt, ist mit Rücksicht auf die praktische Verwertbarkeit als negativ zu bezeichnen. Die Formaldehyddämpfe mischen sich nicht gleichmäfsig mit Luft, bleiben zum Teil nicht vollständig in der Atmosphäre und gehen wiederum polymere Verbindungen ein, welche keine keimtötenden Eigenschaften besitzen.

Teilweise ist man mit Glück dieser Kalamität durch Zusatz eines Neutralsalzes (z. B. $Ca\ Cl_2$) zur Formalinlösung begegnet.

Zur Erzielung praktisch brauchbarer Resultate und zwecks Erreichung des höchstmöglichen Formaldehyd-Desinfektionswertes war man nun genötigt, zu komplizierter eingerichteten Apparaten zu greifen. Der älteste hier zu nennende Apparat ist wohl der von Rosenberg[1]), welch letzterer eine Lösung von 35 % reinen Formaldehyds in 60proz. Methylalkohol mit einem Zusatz von 5 % Menthol (Oppermannsches Holzin) auf einem Asbestteller zum Verdampfen brachte.

Das Menthol sollte alle schon des öfteren genannten Nachteile der bisherigen Gasentwickelung beseitigen. Nachprüfungen ergaben jedoch kein eindeutiges Resultat.

Walter Schloſsmann und Lingner suchten die Polymerisation statt durch Menthol durch einen Zusatz von Glyzerin zu verhindern. Sie brachten eine 40proz. F.-Lösung, welche 10 % Glyzerin enthielt — Glykoformol — in einem zu diesem Zwecke konstruierten Kessel zum Verdampfen.

Die Resultate, welche mit diesem Apparate erzielt wurden, sind günstige; nur bleibt zuweilen ein klebriger Überzug von Glyzerin auf den Möbeln etc. zurück. Das Prinzip ist ein ähnliches wie das der gleich zu besprechenden Versprayung.

Einen ganz anderen Weg, der Polymerisation Herr zu werden, beschritt Trillat endlich, indem er seine Formochlorollösung unter einem Drucke von 3—4 Atmosphären (autoclave formogène) im Desinfektionsraum verteilte. Die Dämpfe sind rein und trocken, enthalten kein Kohlenoxyd und hinterlassen kaum merkbaren Formaldehydgeruch, was Trillat auf die Trockenheit der Dämpfe zurückführt. Denn bei hohem Feuchtigkeitsgehalt der Luft kondensiert sich der mit Formaldehyd geschwängerte Wasserdampf an den Wänden und den Desinfektionsobjekten, an denen der Geruch längere Zeit haften bleibt. Auch sollte

1) Rosenberg, Über Wirkung des Formaldehyds in bisher nicht bekannten Lösungen. Deutsche med. Wochenschr., 1896. — Derselbe, Über die Wirkungen des Formaldehyds im Holzin und Steriform. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt., XXIV, 3.

nach Trillat ein hoher Feuchtigkeitsgehalt die Desinfektionskraft der Formaldehyddämpfe beeinträchtigen. Nach Hefs[1]) ist man imstande, mit dem Trillatschen Autoklaven grofse Räume wirksam zu desinfizieren. »Diese Desinfektion ist jedoch nur eine Oberflächen- oder höchstens geringe Tiefendesinfektion.«

Nachteile des Apparates sind die nicht gefahrlose Handhabung, der hohe Preis desselben und der dazu gehörigen Formochlorollösung. Inzwischen war ausnahmslos die Beobachtung gemacht worden, dafs sowohl höhere Temperaturgrade als ein hoher Feuchtigkeitsgehalt der Luft und der zu desinfizierenden Gegenstände die Desinfektionskraft der Formaldehyddämpfe begünstige.

Schon oben war von einem Formaldehydspray die Rede. Die Apparate, welche jetzt kurz besprochen werden müssen, sind ebenfalls Sprayapparate, jedoch auf grundverschiedenen Voraussetzungen basierend: der Spray-Apparat »Colonia« von Czaplewski und der Spray-Apparat von Prausnitz, welcher mit »Colonia« so ziemlich identisch ist. Beide Apparate, die im Zimmer Aufstellung finden, haben den Zweck, vermittelst eines Wasserstrahles den Formaldehyd aus einem neben dem Wasserkessel angebrachten Formalinbehälter herauszureifsen und als Sprühnebel nach verschiedenen Richtungen hin zu verstäuben. Prausnitz[2]) sagt: »Was die günstige Wirkung unserer Methode anlangt, so dürfte sie hauptsächlich darin begründet sein, dafs durch dieselbe eine ausgiebige und gleichmäfsige Verteilung der mit Formaldehyd geschwängerten Wasserdämpfe in der Luft der Versuchsräume erzielt wurde. Durch die Sprayapparate werden kräftige Dampfströme nach den verschiedenen Richtungen hervorgerufen, was eine so intensive Luftbewegung zur Folge hat, dafs auch die verhältnismäfsig äufserst ungünstig disponierten Kontrollproben abgetötet wurden.« Rubner und Peerenboom[3]) fanden, dafs

---

1) Hefs, Der Formaldehyd etc. Marburg, 1901.

2) Prausnitz, Über ein einfaches Verfahren der Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. Münch. med. Wochenschr., 1899, Nr. 1.

3) Rubner und Peerenboom, Beiträge zur Theorie und Praxis der Formalindesinfektion. Hyg. Rundschau, 1899, Nr. 6.

bei der Entwicklung des Formaldehyds durch Versprayung die horizontal hingelegten Stücke unverhältnismäfsig mehr vom Desinfiziens aufgenommen hatten als die senkrecht aufgehängten, auch wenn diese Stücke nicht, wie das teilweise der Fall war, durch die sich auf dem Fufsboden und dem Fensterbrett niederschlagende Formaldehydlösung sichtbar durchtränkt waren: »Bei der Entwicklung durch Verdampfung aus Paraldehyd und aus Lösungen war dieses nicht der Fall, so dafs also hinsichtlich der Gleichmäfsigkeit der Verteilung die Verdampfung der Versprayung (Vernebelung) vorzuziehen ist.«

Inzwischen ist auch Flügge[1]) zur einfachen Verdampfung der Formaldehydlösung zurückgekehrt, wobei er zum Zweck der Verhütung der Polymerisation verdünnte Lösungen nimmt. Der Flüggesche oder der sogenannte Breslauer Apparat sieht die Notwendigkeit einer gleichzeitigen ausgiebigen Verdampfung von Wasser vor. Da der sogleich noch zu erwähnende Desinfektions apparat, mit welchem ich meine eigenen Versuche angestellt habe, dem Flüggeschen sehr ähnelt, jedenfalls prinzipiell auf denselben Grundsätzen aufgebaut ist, möchte ich noch mit einigen Worten auf den Breslauer Apparat zu sprechen kommen. Derselbe besteht aus einem hartgelöteten Kupferkessel zur Formalin-Verdampfung mit hartgelötetem Spiritusbrenner, Schwarzblechuntersatz, Trichter und Lunte. Der Deckel des Kupferkessels ist hart gelötet bzw. doppelt gefalzt, damit der Kessel nicht verderben kann, selbst wenn ein Überschufs von Brennspiritus nach vollständiger Verdampfung des Formaldehyds den Kessel überhitzt. Dazu gehört ein Ammoniakentwickler mit Lampe, Tropfrinne, Schlauch, Trichter und Dreifufs. Während der eigentliche Formalinapparat während der Desinfektion im Zimmer aufgestellt werden soll — in besonderen Fällen vor dem Zimmer — kann die Neutralisationslösung natürlich nur von aufsen durch das Schlüsselloch eingeleitet werden. Zur Verdampfung kommt eine ca. 8proz. Formalinlösung; die Desinfektionsdauer beträgt

1) Flügge, Die Wohnungsdesinfektion durch Formaldehyd. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt., 1898. Bd. 29.

7 Stunden bei 2,5 g reinen Formaldehyds pro 1 cbm Raum resp. $3^1/_2$ Stunden bei Verwendung der doppelten Menge (5 g) Formaldehyds pro 1 cbm Raum. Es ist erwiesen, dafs bei Verwendung solch verdünnter Formalinlösungen eine Polymerisation hintangehalten wird. Desgleichen unterstützt, ebenfalls erwiesenermafsen, der reichliche Wassergehalt der Luft die Desinfektionskraft des Formaldehyds in hohem Mafse. Die nötigen Quanten von Formalin, Spiritus, Wasser resp. 25proz. Ammoniak und Spiritus enthalten, für eine Reihe von Zimmer genau berechnet, die dem Apparat beigegebenen Tabellen. Die mit der Flüggeschen Methode erzielten Resultate sind zum Teil sehr gute, zum Teil jedoch auch ungünstige. Es bestehen hier Differenzen von 98—99% bis herab bis ca. 20proz. Sterilität der Testobjekte.

Im ganzen war der Flüggesche Apparat bisher wegen seiner Leistungsfähigkeit, Einfachheit und Billigkeit wohl der verbreitetste und am meisten angewendete. Der Preis des Formalin- und des Ammoniakapparates zusammen stellt sich auf 64 M. exkl. Kiste und Verpackung.

Eine Modifikation dieser Breslauer Methode ist die Pfuhlsche »Kriegsmethode«, bei der besonders zu Kriegszeiten die jeweilig erforderliche Formalinlösung durch Auflösung von Formalinpastillen im Wasser hergestellt werden soll.

In neuester Zeit hat nun die Firma Eduard Schneider-Hannover, Grünstr. 1, einen neuen Formaldehyddesinfektionsapparat konstruiert, der unter dem Namen »Rapid-Formaldehyd-Desinfektor« in den Handel gebracht wird und vor dem Breslauer resp. dem Flüggeschen Apparate grofse Vorteile besitzen soll.

Da eine Nachprüfung dieser Methode noch nicht in der Literatur bekannt geworden ist, soviel ich weifs, so habe ich in unserem hiesigen Institute eine Reihe von Versuchen mit dem neuen »Rapid-Formaldehyd-Desinfektor« angestellt, deren Resultate ich im folgenden mitteilen möchte. Um mir ein sicheres Urteil über die Vorzüge oder Nachteile des Schneiderschen Apparates bilden zu können, habe ich zum Vergleich auch mit dem Flüggeschen Desinfektor eine Reihe von Versuchen angestellt.

Der Schneidersche „Rapid-Formaldehyd-Desinfektor". Versuchsanordnung.

Der neue Apparat lehnt sich in seiner äufseren Konstruktion eng an den Flüggeschen Desinfektor an. Die Vorbedingungen für einen zur Grofsdesinfektion wirklich brauchbaren Formaldehyd-Desinfektor, welche aus meinen obigen Erörterungen zur Genüge hervorgehen, erfüllt auch der Schneidersche Apparat D. R. P. Nr. 110635. Derselbe besteht zunächst aus einem aus starkem Kupfer und aus einem Stück gearbeiteten Verdampfer, welcher zwei Eingufsöffnungen, ein Abströmungsrohr und zwei Handhaben besitzt. Ein Mantel aus Eisenblech trägt diesen Kupferkessel.

Der Verdampfer wird im Gegensatze zu dem Breslauer Apparat derart von dem Mantel getragen, dafs die Spiritusflammen des Brenners nicht über den Mantel herausschlagen, und dieser demzufolge nach Entzündung der Wärmequelle keiner besonderen Beaufsichtigung bedarf. Der Spiritusbrenner befindet sich im Innern des Eisenblechmantels unterhalb des kupfernen Verdampfers und kann durch eine im Mantel befindliche Öffnung nach Belieben entzündet und ausgelöscht werden. Für genügende Luftzufuhr ist durch seitliche Öffnungen im Mantel gesorgt. Der ganze Apparat ist aufserordentlich handlich und leicht zu transportieren. Bis hierher stimmt der Rapid-Desinfektor ziemlich mit dem Flüggeschen Apparate überein. Auch kann er genau wie letzterer sowohl innerhalb des Raumes in Tätigkeit gesetzt als auch das Gas unter Benutzung eines Gummischlauches in bekannter Weise von aufsen durch das Schlüsselloch eingeleitet werden. Die Modifikation gegenüber dem Breslauer Desinfektor besteht nun im folgenden: Während bei letzterem der kupferne Kessel einen einzigen grofsen Hohlraum bildet und zur Aufnahme sowohl des Formalins als des Wassers bestimmt ist, führt die mittlere Öffnung des Verdampfers am Rapid-Desinfektor in ein am Deckel separat befestigtes, stark angelötetes Kupfergefäfs, welches mit 40proz. Formaldehydlösung beschickt wird, wohingegen die seitliche Öffnung zur Aufnahme des Wassers dient. Das Formalingefäfs hängt demnach frei in den für das Wasser

bestimmten Raum hinein und steht mit diesem nur durch eine seitliche Öffnung in Verbindung. Durch diese seitliche Kommunikationsöffnung tritt der Wasserdampf in das Formalingefäſs, nimmt die Formaldehyddämpfe von hier mit, und beide Gase strömen vermischt aus dem Ausströmungsrohr in starkem Strahle ins Zimmer aus. Der Apparat ist zur Aufnahme von 2,4 kg Formalin und 7,2 kg Wasser eingerichtet, so daſs damit Räume bis 300 cbm ausreichend desinfiziert werden können. Dahingegen sollen bei Verwendung der Flüggeschen Methode schon bei Zimmern von 100—150 cbm Rauminhalt tunlichst 2 Apparate aufgestellt werden.

Zur Verdampfung von 2,4 kg Formalin und 7,2 kg Wasser sind 2 l Spiritus in den Brenner einzufüllen. Die dem Apparate beigegebenen Tabellen enthalten die Mengen zur Beschickung des Rapid-Formaldehyd-Desinfektors für Zimmergröſsen von 50—300 cbm, desgleichen die Mengen NH_3 und Spiritus zur Ammoniakverdampfung. Die verwendete Spiritusmenge ist, wenigstens für die Formaldehydentwicklung, eine geringere als beim Flüggeschen Desinfektor. Nach Verlöschen der Spiritusflamme soll nach Angaben der Fabrik genügend Formaldehyd und Wasser verdampft sein, und der in dem Formaldehydbehälter zurückbleibende Rest kann unbenutzt bleiben. Nach Verlauf von 7 Stunden ist die Desinfektion beendet, bei Verwendung der doppelten Menge von Formaldehyd und Wasser kann die Desinfektionsdauer auf $3\frac{1}{2}$ Stunden abgekürzt werden. Nach geschehener Desinfektion wird der kupferne Verdampfer aus dem Mantel genommen und hierfür eine auf denselben passende Emailleschale, welche in jedem Haushaltungsgeschäft erhältlich ist, zur Verdampfung des Ammoniaks aufgesetzt. Auch können besondere Ammoniak-Apparate zur Verwendung kommen. Auf je 400 ccm des zur Verwendung gekommenen Formalins werden 500 ccm 25proz. Ammoniaklösung verdampft. Der Ammoniakverdampfer bleibt noch $\frac{1}{2}$ Stunde nach Verlöschen der Spiritusflamme an Ort und Stelle.

Der Preis des Apparates »Schneider« beläuft sich auf 65 M. inkl. Verpackung.

Ein gröfserer Ammoniakentwickler, bestehend aus Mantel, Kessel, Spiritusbrenner, Tropfenfänger und Dreibein wird von der oben genannten Firma inkl. Verpackung für 20 M. geliefert. Kleine komplette Desinfektionskästen für Stadt- und Landpraxis mit Apparat, für 50—100 cbm Raum ausreichend, nebst Formaldehyd, Spiritus, Ammoniak, Abdampfschale, Gummischlauch und Dichtungsmaterial sind sogar schon für 45 M. zu erhalten.

Der neue Rapid-Desinfektor soll nach Bericht der Fabrik schon in vielen städtischen Verwaltungen, bei Militärbehörden, in Krankenhäusern etc. mit grofsem Erfolge angewandt sein. Wie ich schon erwähnt habe, kenne ich eine wissenschaftliche Nachprüfung dieses Apparats aus der Literatur nicht.

Wohl wurde der Schneidersche Desinfektor (ebenfalls nach Angaben der Fabrik) auf der bakteriologischen Station der Charkower Medizinischen Gesellschaft von Ostrjanin einer Prüfung unterzogen, und lieferte derselbe völlig zufriedenstellende Resultate. Als Vorzüge werden die Billigkeit, die kurze Dauer der Desinfektion und der Umstand berichtet, dafs bei der Methode keinerlei Beschädigung der zu desinfizierenden Gegenstände stattfindet. Die Anwendung in der Praxis geschah darauf zuerst im Auftrage der Moskauer Gouvernementsverwaltung und des Laboratoriums der Russischen Pharmazeutischen Gesellschaft.

Nachdem ich so mit einigen Worten den von mir zu prüfenden Apparat beschrieben und die Abweichungen von dem auf demselben Grundprinzip aufgebauten Flüggeschen Desinfektor hervorgehoben habe, gehe ich nunmehr zu meinen eigenen Versuchen über.

Als Versuchsraum diente ein Zimmer im ersten Stockwerk des linken Seitenflügels unseres Institutes. Dasselbe ist in Fachwerk aufgebaut und liegt nach Süden frei. Der Raum ist durch eine leichte Zwischenwand, welche eine grofse Türöffnung besitzt, so geteilt, dafs ein kleines »Nebenzimmer« von dem gröfseren »Vorraum« abgegrenzt ist. Der Vorraum ist zwei-, das Nebenzimmer einfenstrig, und zwar befinden sich in beiden Abteilungen des Versuchsraumes Doppelfenster. Die Gröfse des Versuchszimmers wurde so festgestellt, dafs ich für jede Abteilung ge-

trennt den Kubikinhalt bestimmte und die gefundenen Zahlen nachher addierte:

	Vorraum:	Nebenzimmer:
Länge:	3,60 = 4 m	2,45 = 2 m
Höhe:	2,80 = 3 »	2,80 = 3 »
Breite:	4,00 = 4 »	4,00 = 4 »
Kubikinhalt	= 48 cbm.	= 24 cbm.

Der Kubikinhalt des Versuchsraumes beträgt demnach 72 cbm. Da ich bei der Bestimmung der Länge, Breite und Höhe des Zimmers so verfahren bin, dafs ich alles über 0,5 nach oben abrundete, um gerade Zahlen zu erhalten, so konnte ich, ohne einen Versuchsfehler zu begehen, den Gesamtkubikinhalt des Versuchsraumes für die spätere Berechnung der zu verwendenden Lösungen mit rund 70 cbm zugrunde legen.

Um die Verhältnisse in der Praxis möglichst nachzuahmen, wurden verschiedene Gegenstände im Zimmer aufgestellt resp. in demselben belassen. So befanden sich im Vorraum ein grofser Kachelofen, eine grofse Holzkiste, ein Tisch, ein Stuhl und einige Bretter, letztere schräg an die Wand gelehnt. Im Nebenzimmer waren ein Schrank, ein Stuhl und ebenfalls mehrere Bretter aufgestellt. An den Wänden des Vorraumes wurden in Höhe von 1 m, 1,90 und 2,10 m kleine Postamente zur Aufnahme der die Testobjekte enthaltenden Petrischen Schälchen angebracht, im Nebenzimmer in Höhe von 1 und 2 m ebensolche. Aufserdem wurden Testfäden dem Formaldehyd exponiert in einer Höhe von 2,50 m auf dem Kachelofen im Vorraume, sowie im Nebenraume auf dem dort befindlichen Schranke (2 m hoch) und in demselben in Höhe von 1,80 m. Schliefslich wurde noch ein Schälchen in der äufsersten, d. h. von dem Desinfektor am weitesten entfernten Ecke des Nebenraumes auf dem Fufsboden untergebracht.

Um die Tiefenwirkung des Formaldehyds kennen zu lernen, wurde ein Petrisches Schälchen mit der gewünschten Anzahl der Testobjekte beschickt und ohne Deckel in ein Bündel Zeug oder in ein Handtuch lose oder auch fester eingeschnürt. Auch wurde

trockene Leinwand verschiedene Male mit Reinkulturen imprägniert und dieselbe frei sodann im Zimmer ausgebreitet. In jedem Versuche wurden aufserdem sowohl im gröfseren Vorraume als auch im Nebenzimmer in möglichst grofser Zahl Leinentücher wie Handtücher, Arbeitsmäntel etc. vorschriftsmäfsig aufgehängt, um die absorbierenden Flächen zu vervielfältigen und gleichzeitig den Desinfektionswert des Formaldehyds unter Verhältnissen zu prüfen, wie sie praktisch wohl allein nur als gegeben angenommen werden müssen.

Was die Testobjekte angeht, so wurden 1—1½ cm lange, mittelstarke Seidenfäden mit Reinkulturen imprägniert von:

1) Typhusbazillen,
2) Diphtheriebazillen,
3) Milzbrandsporen,
4) Choleravibrionen,
5) Sporenfreien Milzbrandbazillen,
6) Bazillus Friedländer,
7) Streptokokken,
8) Staphylococcus pyogenes aureus,
9) Dysenteriebazillen,
10) Bacillus glutinosus pulmonum und
11) Tuberkelbazillen.

Zwecks Herstellung der Testobjekte — Typhus, Diphtherie, Cholera, Friedländer, Streptokokken, Staphylococcus pyogenes aureus, Dysenterie und Bac. glutinosus pulmonum — wurden 24 stündige Agarkulturen genommen, und der gewachsene Rasen in Bouillon aufgeschwemmt, und in diese hinein die sterilen Seidenfäden gelegt. Getrocknet wurden diese Fäden bei Brüttemperatur von 37° während 6—8 Stunden. Die Fäden, welche getrocknet wurden, blieben solange in der Kulturbouillon liegen, bis sie soweit imprägniert waren, dafs sie auf den Boden des Gefäfses niedersanken. Neben trockenem wurde stets auch feuchtes Bakterienmaterial, d. h. kurz vor dem Versuche aus der Bouillon herausgenommene Fäden der Desinfektion ausgesetzt.

Da der Bacillus glutinosus pulmonum wohl nicht allgemein bekannt ist, so möchte ich hervorheben, dafs es sich um ein aus

einer Meerschweinchenlunge isoliertes Stäbchen handelt, welches sich auf Agar durch dicke, schleimige, grauweifse Kolonien auszeichnet.

Die Milzbrandsporen stammen ebenfalls vom Agar; die Seidenfadenkulturen wurden in bekannter Weise hergestellt.

Um sporenfreie Milzbrandbazillen mit Sicherheit zu erhalten, ging ich, wie ich schon früher im Centralblatt für Bakteriologie etc. Bd. 33 [1]) beschrieben habe, folgendermafsen vor: Zunächst wurde einer Maus in eine Hauttasche oberhalb der Schwanzwurzel ein Milzbrandsporen-Seidenfaden implantiert, die entstandene Wundöffnung sodann mit Kollodium geschlossen und so eine Nebeninfektion verhütet. Die Maus starb gewöhnlich 24—36 Stunden nach der Impfung. Nach Eröffnung der Maus wurde die Milz mit sterilen Instrumenten herausgenommen und, nachdem von einem abgeschnittenen kleinen Stückchen derselben ein Ausstrichpräparat gemacht und in demselben die Stäbchen nachgewiesen waren, in einem sterilen Mörser mit wenig Bouillon zerkleinert, allmählich mehr Bouillon, im ganzen ca. 15 ccm, zugesetzt und die entstandene Emulsion in ein Reagensglas gegossen. Die noch sichtbaren Bröckel setzten sich schnell am Boden ab; von der obersten Schicht, die eine geringe Trübung noch zeigte, wurde sodann zum Versuch genommen und damit in gewohnter Form die Seidenfäden imprägniert.

Schliefslich habe ich noch zu erwähnen, wie ich die Tuberkelbazillenseidenfäden gewann. Dazu wurden ca. 3 Wochen alte Glyzerinbouillonkulturen verwendet, ein Teil der Reinkultur mit Bouillon verrieben und in diese Bouillon Seidenfäden übermittelt. Bei der Herausnahme der Seidenfäden wurde darauf geachtet, dafs stets mittelgrofse Reinkulturbröckel am Faden haften blieben. Geschah dies nicht, so war es unmöglich, bei den Kontrollröhrchen zu einem positiven Resultat zu gelangen. Auch durften diese Seidenfäden nicht länger als 2, höchstens 3 Stunden der Brüttemperatur zwecks Trocknung ausgesetzt werden. Bei Innehal-

---

1) Engels, Untersuchungen über die bakterizide Wirkung in Alkohol gelöster Desinfizientien auf Bakterienkulturen. Centralbl. f. Bakteriol. etc. Bd. 33, 1903.

tung dieser Vorsichtsmafsregeln gelang es stets, die Kontrollglyzerinbouillon resp. Glyzerinagarkulturen zum Wachstum zu bringen. Ein üppiges Wachstum konnte ich allerdings nicht bemerken.

Die Versuchsanordnung selbst war nun folgende:

Die Petrischen Schälchen wurden mit Hilfe eines Blaustiftes von der Unterfläche her in 2 Hälften geteilt, von denen die eine die trocknen, die andere die feuchten Seidenfäden enthielt, welch letztere kurz vor dem jedesmaligen Versuche aus der Bouillon herausgenommen wurden. Die Schälchen mit Inhalt wurden die vorgeschriebene Zeit dem Formaldehydgase in möglichst schräger Lage ausgesetzt, um dem Gase freien Zutritt zu den Testobjekten zu verschaffen. Nachdem auch der Ammoniak die nötige Zeit eingewirkt hatte, wurden die Schälchen schnell zugedeckt und in meinem Arbeitszimmer die einzelnen Fäden in Bouillonröhrchen gelegt und diese 8 Tage bei Brüttemperatur gehalten. Die Tuberkelbazillenfäden wurden zum Teil auf schrägem Glyzerinagar, zum Teil in Glyzerinbouillon fein verrieben, so gut es ging; die Röhrchen blieben 4 Wochen bei Brüttemperatur stehen. Dabei wurde berücksichtigt, dafs die dem Seidenfaden anhaftenden Reinkulturbröckelchen sich möglichst auf dem Nährboden ausbreiteten. Stets wurden Röhrchen mit 8—10 ccm Inhalt als Nährsubstrat verwendet. Dafs für die nötige Abdichtung des Versuchsraumes gesorgt wurde, brauche ich wohl kaum zu erwähnen. Die Formaldehydentwicklung dauerte stets $3^1/_2$ Stunden bei Verdampfung der doppelten für die genannte Zimmergröfse tabellarisch vorgeschriebenen Quanten Formalin, Wasser und Spiritus. Der Formalinapparat wurde im Zimmer aufgestellt.

Um mir gleichzeitig über die Verhältnisse der Temperatur und der Feuchtigkeit während der Einwirkung des Formaldehyds Aufklärung zu verschaffen, wurde ein Haarhygrometer nach Koppe und ein Thermometer so in der Nähe der Tür im Zimmer aufgestellt, dafs durch ein kleines Fensterchen in der Tür leicht Ablesungen gemacht werden konnten, was halbstündlich geschah. Der Nebel war niemals so dicht, dafs er die Ablesungen hätte

verhindern können. Alle näheren Angaben mache ich bei Besprechung der einzelnen Versuche.

Da ich das Resultat eines einzigen Versuches für ein definitives Urteil über die Wirksamkeit eines Apparates nicht für einwandfrei halte, so wurden sämtliche Versuche mehrfach wiederholt.

I. Versuchsreihe.

Versuche mit dem Schneiderschen Rapid-Formaldehyd-Desinfektor:

Zimmergröfse ca. 70 cbm.

Verwendete Lösungen zwecks Desinfektion:

Formalin: 1120 ccm,
Wasser: 3360 »
Spiritus: 980 » .

Verwendete Lösungen zwecks Neutralisation des Formaldehyds mit Hilfe von Ammoniak:

Ammoniak: 1400 ccm,
Spiritus: 140 » .

Versuch 1.

Das Desinfektionsresultat des ersten Versuches gibt die Tabelle I auf S. 150 wieder.

+ = Wachstum, — = kein Wachstum.

Zunächst möchte ich hervorheben, dafs die Kontrollen in allen Fällen positives Resultat zeitigen. Von den dem Formaldehyd ausgesetzten Testobjekten wurden abgetötet:

	a) von feuchten Fäden		b) von trocknen Fäden	
Typhus	in allen Fällen	= 100 %	in allen Fällen	= 100 %
Diphtherie	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Cholera	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Friedländer	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Streptokokken . . .	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Dysenterie	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Bac. glutin. pulm. . .	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Tuberkelbazillen . .	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Staphyl. pyog. aur. .	» 8 »	= 80 »	» » »	= 100 »
Sporenfreie Milzbrandbazillen	» 8 »	= 80 »	» 9 »	= 90 »
Milzbrandsporen . .	» 1 Falle	= 10 »	» 3 »	= 30 »

Bemerkenswert bei diesem Resultate ist einmal, dafs sämtliche Tuberkelbazillen nach der Desinfektion auf künstlichem Nährboden versagten. Weiterhin widerstanden die sporenfreien Milzbrandbazillen dem Formaldehyd zunächst im trockenen Zustande mehr wie im feuchten, sodann auch länger als die Typhusbazillen, trotzdem nach Literaturangaben letztere resistenter sein sollen als die vegetativen Formen des Milzbranderregers. Die Eitererreger wurden nur in 80% im feuchten Zustande, dagegen in 100% im trockenen und die Milzbrandsporen nur in 10% der Fälle bei Verwendung von feuchten Fäden, in 30% dagegen bei Verwendung der trockenen Testobjekte abgetötet. Die Resultate des ersten Versuches können demnach im ganzen und grofsen nicht als schlechte angesehen werden.

Die gefundenen Sterilitätsziffern bei Verwendung von feuchtem und trockenem Material verhalten sich also wie folgt:

	Staph. pyog. aur.:	Milzbrandbazillen:	Milzbrandsporen:
trocken:	100%	90%	30%
feucht:	80 »	80 »	10 »

Die auf oder nahe am Fufsboden befindlichen Bakterien wie auch besonders die feuchten Kulturfäden wurden weniger zahlreich abgetötet, wie sich aus obigen Zahlen eklatant ergibt. Merkwürdigerweise brachte auch der feuchte Staphylokokkenfaden auf dem Kachelofen in einer Höhe von 2,50 m noch lebensfähige Kokken in der Bouillon zur Entwicklung.

Schliefslich hatte ich gröfsere Flächen einiger an verschiedenen Stellen des Zimmers aufgehängter Handtücher mit Bouillonreinkulturen von Prodigiosus, bac. fluorescens liquefaciens und einer gelben Sarcine imprägniert. Abschabsel dieser Stellen, in Bouillon übertragen, erwiesen sich als steril. Unbeeinflufst dagegen waren sämtliche oben angeführte Testobjekte geblieben, welche ich in ein Schälchen gelegt und sodann in ein dickes Bündel Zeug vorsichtig gehüllt hatte. Alle angelegten Kulturen zeigten üppiges Wachstum.

Die Temperatur und Feuchtigkeitsverhältnisse während des Versuches waren folgende:

Beginn des Versuches				Temperatur	rel. Feuchtigk.	abs. Feuchtigk.
11 Uhr	—	Min.	morgens:	17 ° C	70 %	10 g pro cbm
11 »	30	»	»	18,1° »	82 »	12 » » »
12 »	—	»	mittags:	19,3° »	90 »	15 » » »
12 »	30	»	»	20,8° »	90 »	16,5 » » »
1 »	—	»	nachm.:	23,0° »	89 »	18,5 » » »
1 »	30	»	»	23,0° »	89 »	18,5 » » »
2 »	—	»	»	23,0° »	89 »	18,5 » » »
2 »	30	»	»	22,7° »	88 »	18,0 » » »

Die Temperatur des Versuchsraumes hat erst nach 2 Stunden seinen Höhepunkt — 23° C — erreicht und nimmt am Schlusse um ein Geringes ab. Die relative Feuchtigkeit ist schon nach 1 Stunde auf 90 % gestiegen, um einige Zeit auf dieser Höhe zu bleiben und schliefslich wieder abzufallen. Die absolute Feuchtigkeit wurde nach dem dem Koppeschen Haarhygrometer beigegebenen Diagramm berechnet in g pro cbm. Dieselbe ist fast stets proportional mit der Temperatur gestiegen.

Versuch 2.

Die Versuchsanordnung wie beim ersten Versuche. Das Resultat ist in der Tabelle II S. 150 niedergelegt.

Durch den Formaldehyd wurden vernichtet:

	a) von trocknem Testmaterial	b) von feuchtem Testmaterial
Typhus	in allen Fällen = 100 %	in allen Fällen = 100 %
Diphtherie	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Cholera	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Friedländer	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Streptokokken	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Dysenterie	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Tuberkelbazillen	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Staphyl. pyog. aur.	» » » = 100 »	» 9 » = 90 »
Bac. glutin. pulm.	» » » = 100 »	» 9 » = 90 »
Milzbrandbazillen	» » » = 100 »	» 9 » = 90 »
Milzbrandsporen	» 9 » = 90 »	» 5 » = 50 »

Zur Illustrierung der Sterilitätsdifferenz zwischen trockenem und feuchtem Material lasse ich wieder folgende kleine Tabelle folgen:

Erzielte Sterilität in Prozenten:

	Staph. pyog. aur.	Bac. glut. pulm.	Milzbrandbazillen	Milzbrandsporen
trocken:	100 %	100 %	100 %	90 %
feucht:	90 »	90 »	90 »	50 »

Tabelle I. **Versuch, angestellt am 2. V. 03. Kontrolle stets positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer																			
	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.
Typhus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Diphtherie	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Milzbrandsporen	–	–	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+
Cholera	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Milzbrandbazillen	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	+	+
Friedländer	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Streptokokken	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Staphylokokken	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
Dysenterie	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Bac. glutin. pulm.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Tuberkelbazillen	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Tabelle II. **Versuch, angestellt am 8. V. 03. Kontrolle stets positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer																			
	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.
Typhus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Diphtherie	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Milzbrandsporen	+	–	+	–	–	–	+	–	–	–	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–
Cholera	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Milzbrandbazillen	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Friedländer	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Streptokokken	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Staphylokokken	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
Dysenterie	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Bac. glutin. pulm.	–	[illegible]	–	[illegible]	[illegible]	–	–	[illegible]	[illegible]	–	+	[illegible]	–	–	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Tuberkelbazillen	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Der Unterschied macht sich auch hier sehr zugunsten der trockenen Seidenfäden geltend. Die auf Leinen aufgetragenen Reinkulturen von Prodigiosus (2 mal) und Staphyl. pyog. aur. (2 mal) waren abgetötet. Nur auf einem Agarnährboden hatte sich eine einzelne Prodigiosuskolonie entwickelt. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, dafs die verwendete Reinkultur vom Agarnährboden stammte und der Kulturrasen ziemlich dick auf die Leinwand aufgetragen war. Ein Versuchsschälchen mit trockenen und feuchten Fäden war mit einer dünneren Hülle umgeben als im ersten Versuche. Aber auch diese Fäden zeigten, auf Nährboden übertragen, keine Beeinflussung.

Die Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse gestalteten sich während des Versuches wie folgt:

Beginn des Versuches	Temperatur	rel. Feuchtigk.	abs. Feuchtigk.
9 Uhr 30 Min.	17,2° C	85 %	12 g pro cbm
10 » — »	19° »	99 »	16 » » »
10 » 30 »	19,6° »	100 »	17 » » »
11 » — »	19,8° »	94 »	16,5 » » »
11 » 30 »	20° »	93 »	16,5 » » »
12 » — »	20° »	93 »	16,5 » » »
12 » 30 »	20° »	93 »	16,5 » » »
1 » — »	19,8° »	93 »	16,5 » » »

Die höchste Temperatur wurde demnach nach 2 Stunden erzielt, die höchste relative Feuchtigkeit nach 1 Stunde und die absolute Feuchtigkeit dieses Mal auch nach Verlauf von 1 Stunde, bleibt jedoch während des ganzen Versuches fast konstant.

Versuch 3

zeitigte das in der Tabelle III S. 153 registrierte Resultat.

Es wurden durch den im Versuch entwickelten Formaldehyd von feuchten und trockenen Kulturen abgetötet:

	a) von trock. Kult.	b) von feuchten Kult.
Diphtherie	in allen Fällen = 100 %	in allen Fällen = 100 %
Cholera	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Milzbrandbazillen . .	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Streptokokken . . .	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Tuberkelbazillen . .	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Dysenterie	» » » = 100 »	» 9 » = 90 »
Friedländer	» » » = 100 »	» 8 » = 80 »
Typhus	» 9 » = 90 »	» 4 » = 40 »
Bac. glutin. pulm. . .	» allen » = 100 »	» 3 » = 30 »
Staphyl. pyog. aur. . .	» » » = 100 »	» 2 » = 20 »
Milzbrandsporen . .	» 8 » = 80 »	» 1 Falle = 10 »

Veranschaulichen wir uns das Resultat sowie die Differenzen zwischen den trockenen und feuchten Kulturen durch eine kleine Zusammenstellung, so ergibt sich das folgende sehr zugunsten der trockenen Fäden ausfallende Resultat: Es wurden abgetötet:

	Dysenterie	Friedländer	Typhus	Bac. glut. pulm.	Staph. pyog. aur.	Milzbrandsporen
an trocknen Fäden in	100 %	100 %	90 %	100 %	100 %	80 %
› feuchten › ›	90 ›	80 ›	40 ›	30 ›	20 ›	10 ›

Hat sich das Desinfektionsresultat so ziemlich in den Grenzen der ersten Versuchsreihen gehalten, so tritt gerade bei diesem Versuche doch in überzeugender Deutlichkeit stets die gröfsere Sterilitätsziffer bei den an Fäden angetrockneten Bakterien gegenüber den im feuchten Zustande exponierten Keimen hervor.

Die mit einem Handtuch in einfacher Lage umhüllte Schale mit 22 Testobjekten war auch dieses Mal dem Formaldehyd ausgesetzt. Die Testfäden waren jedoch, trotz der dünnen Umhüllung, nicht getötet. Dagegen waren Prodigiosus und Staphylokokkus pyog. aureus, an 4 voneinander weit entfernten Stellen auf Leinen aufgetragen, vollkommen vernichtet.

Die Temperaturen und Feuchtigkeitsgrade der Luft verhielten sich folgendermafsen:

Beginn des Versuches	Temperatur	rel. Feuchtigk.	abs. Feuchtigk.
9 Uhr — Min.	8° C	80 %	6,5 g pro cbm
9 › 30 ›	11° ›	85 ›	8,5 › › ›
10 › — ›	14° ›	95 ›	11,5 › › ›
10 › 30 ›	14° ›	100 ›	12 › › ›
11 › — ›	13,9° ›	100 ›	12 › › ›
11 › 30 ›	13,6° ›	100 ›	12 › › ›
12 › — ›	13,6° ›	98 ›	11 › › ›
12 › 30 ›	13,6° ›	98 ›	11 › › ›

Wir haben demnach:

höchste Temperatur nach 1 Stunde,
höchste relative Feuchtigkeit nach $1^1/_2$ Stunden und
höchste absolute Feuchtigkeit nach 1 Stunde.

Versuch 4.

Das Resultat dieses Versuches enthält Tabelle IV auf S. 153.

Tabelle III. [illegible]

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer: Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.
Typhus	+	−	+	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−	−	−	+	−	+	−
Diphtherie . . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Milzbrandsporen .	+	−	+	+	+	−	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	−	−	+	−
Cholera	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Milzbrandbazillen	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Friedländer . . .	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
Streptokokken . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Staphylokokken .	+	−	+	−	−	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−
Dysenterie . . .	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Bac. glutin. pulm.	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−
Tuberkelbazillen .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle IV. **Versuch, angestellt am 12. V. 03. Kontrollen positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer: Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.
Typhus	+	−	−	−	−	−	+	−	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Diphtherie . . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Milzbrandsporen .	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	+	−
Cholera	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Milzbrandbazillen	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Friedländer . . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Streptokokken . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Staphylokokken .	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−
Dysenterie . . .	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	+	−	+	−
Bac. glutin. pulm.	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	+	−	+	−	+	−
Tuberkelbazillen .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Sterilität wurde erzielt:

	a) bei trocknen Testobjekten	b) bei feuchten Testobjekten
Diphtherie	in allen Fällen = 100%	in allen Fällen = 100%
Cholera	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Friedländer	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Streptokokken	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Tuberkelbazillen	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Milzbrandbazillen	» » » = 100 »	» 7 » = 70 »
Dysenterie	» » » = 100 »	» 6 » = 60 »
Typhus	» » » = 100 »	» 5 » = 50 »
Bac. glutin. pulm.	» » » = 100 »	» 1 » = 10 »
Staphyl. pyog. aur.	» » » = 100 »	» 0 » = 0 »
Milzbrandsporen	» 9 » = 90 »	» 0 » = 0 »

Wiederum sehen wir eine gewisse Regelmäfsigkeit in der Beeinflussung der trockenen und feuchten Kulturfäden. Die an Seidenfäden angetrockneten Bakterien sind fast durchweg durch den Formaldehyd vernichtet worden, dagegen blieben die feuchten Fäden in noch stärkerem Mafse wie bisher entwicklungsfähig. Abgetötet wurden:

	Milzbrand-bazillen	Dysenterie	Typhus	Bac. glutin. pulm.	Staph. pyog. aur.	Milzbrand-sporen
trocken in	100%	100%	100%	100%	100%	90%
feucht »	70 »	60 »	50 »	10 »	0 »	0 »

Die mit einer mehrfachen Mullschicht überdeckten Fäden zeigten nicht beeinträchtigtes Wachstum. Die Ausstriche von Reinkulturen von Streptokokken und Staphyl. pyog. aur. auf Mullbinden, welche auseinandergerollt und frei aufgehängt waren, erwiesen sich als nicht mehr lebensfähig. Die aufgestellten Apparate zeigten folgende Temperatur und Feuchtigkeitsverhältnisse:

Beginn des Versuches	Temperatur	rel. Feuchtigk.	abs. Feuchtigk.
10 Uhr 30 Min.	12 °C	83%	9,5 g pro cbm
11 » — »	12 ° »	83 »	9,5 » » »
11 » 30 »	14 ° »	96 »	11,5 » » »
12 » — »	14,3° »	100 »	12 » » »
12 » 30 »	14,8° »	100 »	12,5 » » »
1 » — »	16,5° »	100 »	14 » » »
1 » 30 »	16,5° »	100 »	14 » » »
2 » — »	15,1° »	92 »	11 » » »

Wir beobachten demnach gleichzeitiges Ansteigen der Temperatur und der absoluten Feuchtigkeit, welche beide ihren

Höhepunkt nach $2^1/_2$ stündiger Formaldehyd-Wasserdampfentwicklung erreichen. Die relative Feuchtigkeit hat hingegen ihren Höhepunkt schon nach $1^1/_2$ Stunden erlangt.

Versuch 5.

Die in der Tabelle V S. 157 niedergelegten Versuchsergebnisse sind die folgenden: Abgetötet wurden:

	a) von angetrockneten Kulturen	b) von feuchten Kulturen
Diphtherie	in allen Fällen = 100 %	in allen Fällen = 100 %
Cholera	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Streptokokken	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Tuberkelbazillen	» » » = 100 »	» » » = 100 »
Typhus	» » » = 100 »	» 9 » = 90 »
Friedländer	» » » = 100 »	» 8 » = 80 »
Dysenterie	» » » = 100 »	» 6 » = 60 »
Milzbrandbazillen	» 5 » = 50 »	» 5 » = 50 »
Staphyl. pyog. aur.	» allen » = 100 »	» 4 » = 40 »
Bac. glutin. pulm.	» 7 » = 70 »	» 4 » = 40 »
Milzbrandsporen	» 1 Falle = 10 »	» 0 » = 0 »

Nicht mehr wachstumsfähig waren also:

	Typhus	Friedländer	Dysenterie	Milzbrandbazillen	Staph. pyog. aur.	Bac. glut. pulm.	Milzbrandsporen
trocken in	100 %	100 %	100 %	50 %	100 %	70 %	10 %
feucht in	90 »	80 »	60 »	50 »	40 »	40 »	0 »

Zum ersten Male begegnen wir hier der Erscheinung, dafs das Formaldehydgas auf ein feuchtes Testobjekt und zwar auf feuchte Milzbrandbazillenfäden nicht schlechter eingewirkt hat als auf die trockenen Bazillenleiber. Im übrigen geht jedoch auch aus der letzten Zusammenstellung eindeutig die gröfsere Wirksamkeit des Formaldehydes auf die trockenen Bakterienfäden hervor.

Die Tiefenwirkung wurde genau wie in Versuch 4 eruiert; das Resultat bestätigte dasjenige aus dem vorhergehenden Versuche; es trat in allen mit den Fäden beschickten Nährböden typisches Wachstum ein. Auf Mull ausgestrichen waren Staphyl. pyog. aur. und Streptokokken an je 2 mehrere Meter voneinander entfernten Stellen. Ein Wachstum war nach der Desinfektion nicht mehr zu konstatieren.

Die während des Versuches beobachteten Temperaturen und Feuchtigkeitsgrade waren folgende:

Beginn des Versuchs	Temp.	rel. Feuchtigk.	absol. Feuchtigkeit
10 Uhr — Min.	14° C	80 %	9,5 g pro cbm
10 » 30 »	14,8° »	90 »	11 » » »
11 »	16,6° »	98 »	14 » » »
11 » 30 »	16,6° »	100 »	14 » » »
12 »	16,8° »	100 »	14,3 » » »
12 » 30 »	16,8° »	100 »	14,3 » » »
1 »	16,8° »	100 »	14,3 » » »
1 » 30 »	16,3° »	95 »	13 » » »

Höhepunkt der Temperatur wurde mit 16,8° C erreicht nach 2 Stunden, der absoluten Feuchtigkeit mit 14,3 g pro 1 cbm Raum ebenfalls nach 2 Stunden; die relative Feuchtigkeit betrug schon nach $1^1/_2$ Stunden 100%.

Wollen wir nunmehr unser Urteil über die neue Zimmerdesinfektionsmethode mit Hilfe des Schneiderschen Rapid-Formaldehyd-Desinfektors formulieren, so sind hier vorläufig verschiedene Punkte getrennt ins Auge zu fassen.

Zunächst konnte ich regelmäfsig konstatieren, dafs bei Innehaltung der dem Apparat beigegebenen Gebrauchsanweisung die Bakterien, welche in dünner Schicht auf Leinwand oder Mull aufgetragen wurden, mit Sicherheit durch den Formaldehyd abgetötet werden; dahin gehören Bacillus prodigiosus, Sarcinearten und von den Eitererregern der Staphylococcus pyogenes aureus und ein von mir aus einem Abszefs meines rechten Zeigefingers isolierter Streptokokkus. Nur in Versuch 2 (siehe oben) war eine einzige Kolonie von Prodigiosus noch zur Entwicklung gekommen, nachdem ich den Agarrasen einer Prodigiosus-Reinkultur in etwas dickerer Schicht auf die Leinwand aufgetragen hatte. Daraus geht hervor, dafs nur oberflächlich infiziertem Zeuge anhaftende Keime mit Sicherheit vernichtet werden.

Was die Tiefenwirkung des Formaldehyds angeht, so war dieselbe in nennenswerter Form in keiner Weise zu erreichen. Sämtliche umhüllten Testobjekte blieben stets lebens- und wachstumsfähig, selbst wenn die Umhüllung nur aus einer 2—3fachen Lage des porösen Mulls bestand.

Tabelle V.

Versuch, angestellt am 15. V. 08. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer																			
	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Typhus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Diphtherie . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
Cholera	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen .	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—	+	—	+	—
Friedländer . . .	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptokokken . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken .	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—
Dysenterie . . .	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	+	+
Tuberkelbazillen .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Einwirkung auf Infektionserreger wurde an fast sämtlichen für die Praxis in Frage kommenden Keimen studiert. Dieselben wurden in verschiedener Höhe ausgebreitet, um so gleichzeitig zu einem Urteil darüber zu gelangen, in welcher Höhe die Formaldehydwirkung die intensivste und sicherste sei.

Um uns die Einwirkung auf die Infektionserreger besser zu veranschaulichen, ist es zweckmäfsig, aus den in den fünf Versuchen erzielten Resultaten, für jedes Testobjekt getrennt, das Mittel zu ziehen und diese erhaltenen Mittelwerte tabellarisch zusammenzustellen. Wir würden demnach folgende Zahlen für die erreichte Sterilität erhalten:

Tabelle VI.

a) bezüglich des trockenen Testmaterials:

Testobjekte	Versuch I	Versuch II	Versuch III	Versuch IV	Versuch V	Mittelwerte
Diphtherie . . .	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Cholera	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Friedländer . . .	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Streptokokken . .	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Dysenterie . . .	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Tuberkelbazillen .	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Staph. pyog. aureus	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Typhus	100 »	100 »	90 »	100 »	100 »	98 »
Bac. glut. pulm. .	100 »	100 »	100 »	100 »	70 »	94 »
Milzbrandbazillen .	90 »	100 »	100 »	100 »	50 »	88 »
Milzbrandsporen .	30 »	90 »	80 »	90 »	10 »	60 »

Die Resultate, welche ich demnach mit den an Seidenfäden angetrockneten Bakterienkulturen erhalten habe, sind als außerordentlich günstige zu bezeichnen.

Überblicken wir nun die mit den aus der Kulturflüssigkeit herausgenommenen und in feuchtem Zustande exponierten Seidenfäden erzielten Ergebnisse, so zeigt sich das in Tabelle VII ersichtliche Bild.

Wie die beiden vorstehenden Tabellen, insbesondere die Rubriken der Mittelwerte eklatant zeigen, sind die Unterschiede zwischen den feuchten und trockenen Testobjekten so grofs, dafs hier noch ein besonderer Faktor mitgespielt haben mufs. Ich

habe deshalb noch weitere Versuche angestellt, um die Ursachen dieses immerhin bemerkenswerten Verhaltens des feuchten Bakterienmaterials festzustellen. Darüber werde ich weiter unten noch berichten.

Tabelle VII.

b) bezüglich des feuchten Testmaterials:

Testobjekte	Versuch I	Versuch II	Versuch III	Versuch IV	Versuch V	Mittelwerte
Diphtherie . . .	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Cholera	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Streptokokken . .	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Tuberkelbazillen .	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »
Friedländer . . .	100 »	100 »	80 »	100 »	80 »	92 »
Dysenterie . . .	100 »	100 »	90 »	60 »	60 »	82 »
Milzbrandbazillen .	80 »	90 »	100 »	70 »	50 »	78 »
Typhus	100 »	100 »	40 »	50 »	90 »	76 »
Bac. glut. pulm. .	100 »	90 »	30 »	10 »	40 »	54 »
Staph. pyog. aureus	80 »	90 »	20 »	0 »	40 »	46 »
Milzbrandsporen .	10 »	50 »	10 »	0 »	0 »	14 »

Noch deutlicher hebt sich das Resultat durch folgende kleine Tabelle hervor:

Tabelle VIII.

Sterilität, ausgedrückt in Prozenten:

Testobjekte	Diphtherie	Cholera	Streptokokken	Tuberkelbazillen	Friedländer	Dysenterie	Milzbrandbazillen	Typhus	Bac. glut. pulm.	Staph. pyog. aur.	Milzbrandsporen
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
trockene Fäden	100	100	100	100	100	100	88	98	94	100	60
feuchte Fäden	100	100	100	100	92	82	78	76	54	46	14

Vorläufig sei hier festgestellt, dafs es gelingt, eine ganze Reihe von Bakterien, die wir als Infektionserreger bestimmter Erkrankungen des menschlichen Organismus kennen, mit Hilfe des Schneiderschen Apparates unschädlich zu machen. Hierher gehören die Diphtheriebazillen, Choleravibrionen und die Streptokokken. Ich bin mir wohl bewufst, dafs die eingeschlagene Methodik bezüglich der Tuberkelbazillen nicht durchaus einwandfrei ist, wennschon die Kontrollkulturen stets Wachstum zeigten. Gelingt es so schon schwer, Tuberkelkulturen unter Umständen

fortzuzüchten, so ist von vornherein anzunehmen, daſs es noch schwieriger sein muſs, für schon durch Formaldehyd nachteilig beeinfluſste, aber eventuell noch lebensfähige Tuberkelbazillen ein geeignetes Nährsubstrat zu finden. Wenngleich schon im Jahre 1891 v. Behring in einer Kontroverse gegen Geppert[1]) gestützt auf seine Versuche und seine Erfahrungen, entschieden dem Kulturversuch das Wort gesprochen und sehr gewichtige Einwendungen gegen das Tierexperiment gegenüber den kulturellen Methoden erhoben hat, so glaube ich gegenüber den Tuberkelbazillen doch in dem Tierversuch das bessere Reagens sehen zu müssen. Meine Versuche, über die ich noch zu berichten haben werde, haben es bestätigt.

Im übrigen sind meine Versuche zahlreich genug — in jedem Versuche handelte es sich, abgesehen von Kontrollen etc., um minimum **242 Testobjekte** —, einen positiven Schluſs daraus abzuleiten, den ich mir jedoch noch bis zur Registrierung der zum Vergleich mit der Breslauer Methode vorgenommenen Zimmerdesinfektionsversuche aufspare.

Eine zweite Frage ist die, in welcher Höhe und in welcher Entfernung vom Desinfektionsapparat tritt die Desinfektionswirkung am offenkundigsten und am intensivsten zutage?

Auch hier wird es am zweckmäſsigsten sein, einen übersichtlichen Auszug aus den 5 Versuchen zu geben. Ich bin dabei so verfahren, daſs ich aus jeder Tabelle die nicht abgetöteten Testobjekte numerisch zusammengestellt habe, einmal getrennt nach den trocknen und feuchten Kulturseidenfäden, sodann in ganzer Summe, wie die folgende kleine Tabelle zeigt. Die Gesamtzahl der jeweils geprüften Testobjekte in der betreffenden Höhe ist durch die unterste Zahl zum Ausdruck gekommen.

Es bedeuten also die unter »a« angegebenen Zahlen die nicht abgetöteten feuchten Testobjekte, die unter »b« die nicht beeinfluſsten trocknen; durch Addition erhalte ich die gewünschte Gesamtzahl der nicht vernichteten Bakterienfäden.

1) Behring, Die Sublimatfrage und Herr Geppert. (Deutsche med. Wochenschr., 1891, Nr. 29 u. 30.) Weiterhin siehe Behring, Berliner klin. Wochenschr., 1890; dann Bekämpfung der Infektionskrankheiten.

Tabelle IX.

Nr. des Versuchs	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer an der Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer an der Wand 1 m hoch		Im Nebenzimmer äußerste Ecke des Fußbodens	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Versuch I . . .	1	—	1	1	1	1	1	—	1	1	2	2	1	—	2	1	3	2
Versuch II . . .	2	—	1	—	—	—	1	—	—	—	4	1	—	—	—	—	—	—
Versuch III . . .	4	—	3	1	2	—	3	—	4	—	7	2	3	—	4	—	3	—
Versuch IV . .	4	—	4	—	3	—	5	—	5	—	8	1	4	—	4	—	4	—
Versuch V . . .	3	2	5	2	1	1	1	1	3	3	8	5	3	—	5	1	5	2
Zusammen	14	2	14	4	7	2	11	1	13	4	29	11	11	—	15	2	15	4
Zahl der nicht abgetöteten Kulturen .	16		18		9		12		17		40		11		17		19	
Zahl der exponierten Testobjekte . . .	110		110		110		110		110		220		110		110		110	

Es geht aus dieser Tabelle zur Evidenz hervor, dafs die beste Wirkung in der Höhe von 1,90 m erzielt worden ist, insofern als die meisten ausgesetzten Testobjekte abgetötet waren. Dann wird die Wirkung mit ansteigender Höhe schlechter; aber auch in geringerer Höhe nimmt die Zahl der sterilen Fäden proportional ab und zwar in stärkerem Mafse als in der Höhe. Der schlechteste Erfolg wurde mit den in einem geöffneten Schranke, aber in der für die Formaldehydwirkung günstigsten Höhe exponierten Fäden erreicht, sodann folgen die am Fufsboden aufgestellten Platten. Einen nennenswerten Unterschied in der Gaswirkung in gröfserer oder geringerer Entfernung vom Apparate habe ich nicht feststellen können. Weshalb gerade die im weitgeöffneten Schranke befindlichen Kulturen so wenig beeinflufst wurden, habe ich mit Sicherheit nicht eruieren können.

Das Eine darf ich aus meinen Versuchen noch schliefsen, dafs nämlich das Formaldehydgas mehr bestrebt ist, in die Höhe zu steigen, als sich gleichmäfsig nach allen Richtungen im Raume auszudehnen. Beim Aufsteigen in die Höhe mufs das Gas natürlich die im Zimmer vorhandene Luft vor sich her treiben, welche bis auf eine bestimmte Dichte, wenn ich so sagen darf, unter der Zimmerdecke zusammengeprefst wird, ohne dafs sie

sich sofort innig mit dem Formaldehyd ohne mechanische Beihilfe vermengt. Auf diese Weise aber bleibt der Hauptteil des desinfizierenden Gases in gewisser Höhe, indem es von der Luft zurückgehalten wird, und in dieser Höhe mufs die intensivste Wirkung eintreten. Ich glaube in meinen Versuchen diesen Punkt in einer Höhe von 1,90—2 m bei einer Zimmerhöhe von 2,80 m gefunden zu haben.

Was endlich die Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse während der Versuche angeht, so war der Höhepunkt erreicht:

	Temperatur		rel. Feuchtigkeit		absol. Feuchtigkeit g pro cbm	
im I. Vers.:	mit 23° C	nach 2 St.	mit 90%	nach 1 St.	mit 8,5 g	nach 2 St.
» II. »	» 20° »	» 2 »	» 100 »	» 1 »	» 17 »	» 2 »
» III. »	» 14° »	» 2 »	» 100 »	» $1^1/_2$ »	» 12 »	» 2 »
» IV. »	» 16,5° »	» 2 »	» 100 »	» $1^1/_2$ »	» 14 »	» 2 »
» V. »	» 16,8° »	» 2 »	» 100 »	» $1^1/_2$ »	» 14,3 »	» 2 »

Wir sehen, dafs fast stets nach 1—$1^1/_2$ Std. eine relative Feuchtigkeit von 100% erzielt worden ist; dagegen haben wir die höchste Temperatur erst nach durchschnittlich 2 Std; die absolute Feuchtigkeit geht mit der Temperatur Hand in Hand und erreicht ebenfalls ihren Höhepunkt nach ca. 2 Std. Es ist daher wohl anzunehmen, dafs die Hauptdesinfektionswirkung bei der Formaldehyddesinfektion mit dem Schneiderschen Apparate auf den Schlufs der 2. Stunde fällt. Ich bin mir wohl bewufst, für diese Annahme keinen direkten Beweis erbracht zu haben, jedoch wird meine Vermutung durch die Angaben der verschiedensten Autoren, dafs die Desinfektionswirkung mit steigender Temperatur zunehme, wesentlich gestützt.

Ein weiterer Punkt von Bedeutung ist die Frage, wie ist die Wirkung der Formaldehyddesinfektion mit Hilfe des Rapid-Formaldehyd-Desinfektors nach Schneider im Verhältnis zu derjenigen, welche mittels der bisher meist verwendeten Flüggeschen Methode erzielt wird?

Es wurden zur Beantwortung dieser Frage noch einige Versuche mit dem Breslauer Apparate angestellt, deren Ergebnisse ich nun folgen lassen will.

II Versuchsreihe.

Versuche mit dem Flüggeschen Apparate zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd.

Der Flüggesche Apparat ist von mir schon oben bei der Literaturangabe des näheren erörtert worden und kann ich darauf verweisen, um sofort zu meinen Versuchen übergehen zu können.

Die Anordnung änderte sich bei diesen zum Vergleiche angestellten Versuchen in keiner Weise. Die Testobjekte wurden in derselben Weise hergestellt, an denselben Stellen ausgebreitet und in der bekannten Weise nach der Desinfektion behandelt. Auch wurde wiederum ein Schälchen mit 11 trockenen und ebensovielen feuchten Fäden innerhalb einer bestimmten Hülle dem Desinfiziens ausgesetzt, auch oberflächliche Ausstriche von Reinkulturen auf Leinwand angelegt. Temperatur und Feuchtigkeit wurden desgleichen stets bestimmt. Kurz, es änderte sich nichts in der Methodik.

Die Apparate wurden mit den in den Tabellen für unsere Zimmergröfse von 70 cbm Rauminhalt und eine $3^1/_2$ stündige Gaseinwirkung angegebenen Lösungen als:

	1100	ccm	Formalin,
	1650	,,	Wasser und
	650	,,	Spiritus,
resp. mit	900	,,	Ammoniak und
	90	,,	Spiritus

beschickt.

Die 3 von mir angestellten Versuche hatten folgendes Resultat:

Versuch 6.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle X S. 165 niedergelegt. Sterilität wurde erzielt:

	a) bei trockenen Kulturfäden	b) bei feuchten Kulturfäden
Diphtherie	in allen Fällen = 100 %	in allen Fällen = 100 %
Cholera	› › › = 100 ›	› › › = 100 ›
Streptokokken . . .	› › › = 100 ›	› › › = 100 ›
Tuberkelbazillen . .	› › › = 100 ›	› › › = 100 ›
Friedländer	› › › = 100 ›	› 9 › = 90 ›

	a) bei trockenen Kulturfäden	b) bei feuchten Kulturfäden
Dysenterie	in allen Fällen = 100 %	in 9 Fällen = 90 %
Milzbrandbazillen . .	» » » = 100 »	» 8 » = 80 »
Staph. pyog. aur. . .	» » » = 100 »	» 8 » = 80 »
Bac. glut. pulm. . .	» 9 » = 90 »	» 8 » = 80 »
Typhus	» 9 » = 90 »	» 7 » = 70 »
Milzbrandsporen . .	» 9 » = 90 »	» 4 » = 40 »

Auch hier macht sich der Unterschied zwischen den trocknen und feuchten Fäden geltend, was besonders aus der folgenden übersichtlichen Zusammenstellung hervorgeht:

Abgetötet wurden:

	Friedländer	Dysenterie	Milzbrand-bazillen	Staph. pyog. aur.	Bac. glut. pulm.	Typhus	Milzbrand-sporen
trocken in	100%	100%	100%	100%	90%	90%	90%
feucht in	90 »	90 »	80 »	80 »	80 »	70 »	70 »

Die in ein dichtes Bündel Zeug eingepackten 22 Fäden enthielten sämtlich nach der Desinfektion noch lebende Bakterien. Die auf ein Handtuch ausgestrichenen Reinkulturen von Staphyl. pyog. aur. und Prodigiosus erwiesen sich bei Abimpfungen als abgetötet.

Die beobachteten Temperaturen und Feuchtigkeitsgrade waren folgende:

Beginn des Versuchs	Temp.	rel. Feuchtigk.	absol. Feuchtigkeit
10 Uhr — Min.	13,9° C	53 %	6,5 g pro cbm
10 » 30 »	16,4° »	85 »	12 » » »
11 »	17,4° »	100 »	14,5 » » »
11 » 30 »	17,6° »	100 »	15 » » »
12 »	17,6° »	100 »	15 » » »
12 » 30 »	17,5° »	100 »	15 » » »
1 »	17,5° »	100 »	15 » » »
1 » 30 »	17,3° »	95 »	13,5 » » »

Höhepunkt der Temperatur nach 1½ Std. mit 17,6° C,
Höhepunkt der rel. Feuchtigkeit nach 1 Std. mit 100% und
Höhepunkt der abs. Feuchtigkeit nach 1½ Std. mit 15 g pro cbm.

Versuch 7.

Die oberflächlich auf Leinen ausgebreiteten Reinkulturen von Streptokokken, Staphylokokken und Prodigiosus sind abgetötet. Die in gewohnter Weise in ein Handtuch eingeschlagenen Fäden blieben völlig unbeeinflufst. Siehe Tabelle XI auf S. 165.)

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer																			
	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.
Typhus	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—
Diphtherie	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—
Cholera	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Friedländer	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Tuberkelbazillen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XI. **Versuch, angestellt am 27. V. 03. Kontrollen positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer																			
	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.	feucht	trock.
Typhus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Diphtherie	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen	+	+	+	—	+	—	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—	+	—	—	—
Cholera	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen	+	—	+	—	—	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Friedländer	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
Tuberkelbazillen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Wirkung auf die übrigen Testobjekte war folgende:

	a) trockene Fäden	Sterilität	b) feuchte Fäden	Sterilität
Diphtherie	in allen Fällen	= 100 %	in allen Fällen	= 100 %
Cholera	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Streptokokken	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Tuberkelbazillen	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Typhus	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Friedländer	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Staph. pyog. aur.	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Dysenterie	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Bac. glut. pulm.	» » »	= 100 »	» 8 »	= 80 »
Milzbrandbazillen	» » »	= 100 »	» 5 »	= 50 »
Milzbrandsporen	» 7 »	= 70 »	» 1 Fall	= 10 »

Demnach haben wir folgende Differenzen in der Wirkung auf trockne und feuchte Fäden zu verzeichnen:

	Typhus	Friedländer	Staph. pyog. aur.	Dysenterie	Bac. glut. pulm.	Milzbrand-bazillen	Milzbrand-sporen
trocken in	100%	100%	100%	100%	100%	100%	70%
feucht in	90 »	90 »	90 »	90 »	80 »	50 »	10 »

Temperaturen und Feuchtigkeitsverhältnisse während des Versuches sind die folgenden:

Beginn des Versuchs	Temp.	rel. Feuchtigk.	absol. Feuchtigkeit
9 Uhr — Min.	15,8° C	73 %	10 g pro cbm
9 » 30 »	16,3° »	100 »	14 » » »
10 »	17° »	100 »	14,3 » » »
10 » 30 »	18,6° »	100 »	16 » » »
11 »	18,6° »	100 »	16 » » »
11 » 30 »	18,6° »	100 »	16 » » »
12 »	18,5° »	100 »	15,9 » » »
12 » 30 »	18° »	100 »	15,3 » » »

Demnach haben wir als Höhepunkt zu verzeichnen:

für die Temperatur 18,6° C nach 1½ Std.,
für die rel. Feuchtigkeit 100 % nach ½ Std. und
für die abs. Feuchtigkeit 16 g pro cbm nach 1½ Std.

Versuch 8.

Die Aussaaten von Streptokokken und Staphyl. pyog. aur. ergeben positiven Desinfektionserfolg, die wie in Versuch 7 umhüllten Kulturen dagegen negativen.

Der sonstige Desinfektionserfolg ist in Tabelle XII auf S. 167 registriert.

Tabelle XII.

Versuch, angestellt am 3. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer: Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 2 m hoch		Im kleinen Nebenzimm. an d. Wand 1 m hoch		Im kleinen Nebenzimmer äußerste Ecke d. Fußbodens	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Typhus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Diphtherie . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—
Cholera	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen.	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Friedländer . . .	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptokokken . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dysenterie . . .		—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tuberkelbazillen .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nicht mehr lebens- und wachstumsfähig erwiesen sich nach der Desinfektion:

	a) bei trocknem Testmaterial		b) bei feuchtem Testmaterial	
Diphtherie	in allen Fällen	= 100 %	in allen Fällen	100 %
Cholera	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Streptokokken	» » »	= 100 »	» » »	100 »
Tuberkelbazillen	» » »	= 100 »	» » »	= 100 »
Typhus	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Friedländer	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Staphyl. pyog. aur.	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Dysenterie	» » »	= 100 »	» 9 »	= 90 »
Bac. glutin. pulm.	» 9 »	= 90 »	» 9 »	= 90 »
Milzbrandbazillen	» 9 »	= 90 »	» 8 »	= 80 »
Milzbrandsporen	» 6 »	= 60 »	» 4 »	= 40 »

Auch hier interessiert uns wieder die ungleiche Einwirkung des Formaldehyds auf die verschiedenen Testobjekte:

Sterilität	Typhus	Friedländer	Staph. pyog. aur.	Dysenterie	Bac. glut. pulm.	Milzbrandbazillen	Milzbrandsporen
trockne Fäden	100 %	100 %	100 %	100 %	90 %	90 %	60 %
feuchte »	90 »	90 »	90 »	90 »	90 »	80 »	40 »

Bei Bac. glutinosus pulmonum war dieses Mal in beiden Reihen eine gleiche Wirkung zu verzeichnen. Temperatur und Feuchtigkeitsverhältnisse:

Beginn des Versuches	Temperatur	rel. Feuchtigkeit	absol. Feuchtigkeit
8 Uhr 30 Min.	21 ° C	81 %	14,5 g pro cbm
9 » — »	22,5 ° »	90 »	18 » » »
9 » 30 »	23,5 ° »	100 »	21,5 » » »
10 » — »	23,5 ° »	100 »	21,5 » » »
10 » 30 »	24,8 ° »	100 »	23,5 » » »
11 » — »	25,3 ° »	100 »	24 » » »
11 » 30 »	25,3 ° »	100 »	24 » » »
12 » — »	24,8 ° »	100 »	23,5 » » »

Erreicht ist der Höhepunkt für:
Temperatur mit 25,3 ° C nach 2½ Stunden;
relative Feuchtigkeit mit 100 % nach 1 Stunde und
absolute Feuchtigkeit mit 24 g pro cbm nach 2½ Stunden.

Der besseren Übersicht wegen und des leichteren Vergleiches mit den im ersten Teile meiner Arbeit mit dem Schneiderschen Apparate erzielten Resultaten fasse ich auch hier wieder die Ergebnisse der 3 letzten Versuche zusammen und berechne die Mittelwerte für die jedesmal erreichte positive Desinfektionswirkung.

Tabelle XIII.

a) bezüglich der trockenen Fäden:

Testobjekte	Versuch VI	Versuch VII	Versuch VIII	Mittelwerte
Diphtherie	100 %	100 %	100 %	100 %
Cholera	100 »	100 »	100 »	100 »
Streptokokken . . .	100 »	100 »	100 »	100 »
Tuberkelbazillen . .	100 »	100 »	100 »	100 »
Friedländer . . .	100 »	100 »	100 »	100 »
Staphyl. pyog. aur. .	100 »	100 »	100 »	100 »
Dysenterie	100 »	100 »	100 »	100 »
Milzbrandbazillen .	100 »	100 »	90 »	96,6 »
Typhus	90 »	100 »	100 »	96,6 »
Bac. glut. pulm. . .	90 »	100 »	90 »	93,3 »
Milzbrandsporen . .	90 »	70 »	60 »	73,3 »

Tabelle XIV.

b) bezüglich der feuchten Fäden:

Testobjekte	Versuch VI	Versuch VII	Versuch VIII	Mittelwerte
Diphtherie	100 %	100 %	100 %	100 %
Cholera	100 »	100 »	100 »	100 »
Streptokokken . . .	100 »	100 »	100 »	100 »
Tuberkelbazillen . .	100 »	100 »	100 »	100 »
Friedländer	90 »	90 »	90 »	90 »
Dysenterie	90 »	90 »	90 »	90 »
Staphyl. pyog. aur. .	80 »	90 »	90 »	86,6 »
Typhus	70 »	90 »	90 »	83,3 »
Bac. glut. pulm. . .	80 »	80 »	90 »	83,3 »
Milzbrandbazillen .	80 »	50 »	80 »	70 »
Milzbrandsporen . .	40 »	10 »	40 »	30 »

Die Durchschnittszahlen treten in der Tabelle XV noch deutlicher hervor:

Tabelle XV.

Testobjekte	Diphtherie	Cholera	Streptokokken	Tuberkelbazillen	Friedländer	Dysenterie	Staph. pyog. aur.	Typhus	Bac. glut. pulm.	Milzbrandbazillen	Milzbrandsporen
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
trockene Fäden	100	100	100	100	100	100	100	100	90	90	60
feuchte Fäden	100	100	100	100	90	90	86,6	83,3	83,3	70	30

Die feuchten Kulturfäden haben also stets dem eindringenden Gase gegenüber gröfsere Resistenz an den Tag gelegt als die trockenen.

Auch hier möchte ich kurz die Frage ventilieren, in welcher Höhe und in welcher Entfernung vom Desinfektionsapparate die gröfste Desinfektionskraft entfaltet worden ist. Dazu bedürfen wir wieder einer einfachen kleinen Tabelle, die auf demselben Prinzip beruht wie Tabelle IX oben.

Tabelle XVI.

Nr. des Versuchs	Auf dem Ofen 2,50 m hoch		An der Wand 1 m hoch		An der Wand 1,90 m hoch		An der Wand 2,10 m hoch		Auf dem Schrank 2 m hoch		Im Schrank 1,80 m hoch		Im Nebenzimmer an der Wand 2 m hoch		Im Nebenzimmer an der Wand 1 m hoch		Im Nebenzimmer äufserste Ecke des Fufsbodens	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Versuch VI . . .	2	—	—	—	2	1	4	—	-	—	5	2	2	—	2	—	—	—
Versuch VII . . .	3	1	3	--	3	—	3	1	2	—	3	1	—	—	2	—	1	—
Versuch VIII . . .	3	1	1	—	1	1	—	—	4	2	3	1	—	—	1	1	—	—
Zusammen	8	2	4	—	6	2	7	1	6	2	11	4	2	—	5	1	1	—
Zahl der nicht abgetöteten Kulturen .	10		4		8		8		8		15		2		6		1	
Zahl der exponierten Testobjekte . . .	66		66		66		66		66		132		66		66		66	

a = feuchte, b = trockene Fäden.

Weshalb dieses Mal gerade die am Fufsboden aufgestellten Testobjekte bei sämtlichen 3 Versuchen das beste Resultat zeigen, ist nicht ganz erklärlich; im übrigen sind die in ca. 2 m Höhe befindlichen Bakterien wiederum am meisten von dem Formaldehyd geschädigt worden. Wir finden demnach genau dieselben Verhältnisse wieder, wie wir sie oben schon kennen gelernt haben. Auch die gröfsere oder geringere Entfernung von der Quelle des Formaldehyds hat keinen wesentlichen Einflufs ausgeübt.

Auch die Zeit des Höhepunktes der während der 3 Versuche mit dem Flüggeschen Desinfektor beobachteten Temperaturen und Feuchtigkeitsgrade stimmt fast genau mit der in der ersten Versuchsreihe mitgeteilten überein.

	Temperatur	rel. Feuchtigk.	absol. Feuchtigkeit
Vers. VI	mit 17,6° C nach $1^1/_2$ St.	100% nach 1 St.	15 g pr. cbm nach $1^1/_2$ St.
» VII	» 18,6° » » $1^1/_2$ »	100 » » $^1/_2$ »	16 » » » » $1^1/_2$ »
» VIII	» 25,3° » » $2^1/_2$ »	100 » » 1 »	24 » » » » $2^1/_2$ »

Im einzelnen kann ich auf meine obigen Ausführungen verweisen.

Werfen wir nun noch einen kurzen Rückblick auf die Resultate der beiden ersten Versuchsreihen. Ich habe schon erwähnt, dafs mit dem Schneiderschen und dem Flüggeschen Apparate fast vollkommen übereinstimmende Verhältnisse geschaffen werden. Wir finden eine solche Übereinstimmung in beiden Versuchsreihen bezüglich des Desinfektionserfolges an und für sich, bezüglich der verschiedenartigen Einwirkung des Formaldehydgases auf trockne und feuchte Testobjekte, weiterhin hinsichtlich der in ganz bestimmter Höhe des Raumes erzielten gröfstmöglichen Desinfektionskraft, unabhängig von der gröfseren oder geringeren Entfernung des Testmaterials von der Formaldehydquelle, und schliefslich mit Rücksicht auf die Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse. Desgleichen teilen beide Apparate den Nachteil der geringen Tiefenwirkung.

Es bleibt nun noch übrig, zu eruieren, welche Methode quantitativ die brauchbarste bakterizide Wirkung gegenüber den verwendeten Testgegenständen ausgeübt hat?

Zu diesem Zwecke mufs ich zurückgreifen auf die Tabellen 8 und 15 der ersten resp. der zweiten Versuchsreihe. Zum Vergleich erlaube ich mir, diese beiden kleinen Tabellen hier noch einmal einzufügen:

Tabelle XVII.

Desinfektionsresultate, erzielt mit Hilfe des Schneiderschen Rapid-Formaldehyd-Desinfektors.

Testobjekte	Diphtherie	Cholera	Streptokokken	Tuberkelbazillen	Friedländer	Dysenterie	Milzbrandbazillen	Typhus	Bac. glut. pulm.	Staph. pyog. aur.	Milzbrandsporen
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
trockene Fäden	100	100	100	100	100	100	88	98	94	100	60
feuchte Fäden	100	100	100	100	92	82	78	76	54	46	14

Tabelle XVIII.

Desinfektionsresultate, erzielt mit Hilfe des Breslauer Apparates.

Testobjekte	Diphtherie	Cholera	Streptokokken	Tuberkelbazillen	Friedländer	Dysenterie	Staph. pyog. aur.	Typhus	Bac. glut. pulm.	Milzbrandbazillen	Milzbrandsporen
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
trockene Fäden	100	100	100	100	100	100	100	100	90	90	60
feuchte Fäden	100	100	100	100	90	90	86,6	83,3	83,3	70,0	30

Die beiden vorstehenden Tabellen enthalten in der obersten Reihe fast genau übereinstimmende Prozentzahlen, welche uns den Desinfektionseffekt der beiden geprüften Formalinapparate auf an sterilen Seidenfäden angetrocknete Reinkulturen wiedergeben. Auch die Einwirkung auf die feuchten Testobjekte ist fast durchweg als gleichwertig zu bezeichnen, wenngleich der Staphylokokkus pyogenes aureus und die Milzbrandsporen mit Hilfe des Flüggeschen Desinfektionsverfahrens ungleich häufiger abgetötet werden konnten als mit dem Rapid-Desinfektor. Trotzdem glaube ich zu dem Schlufsergebnis kommen zu dürfen, dafs die beiden geprüften Apparate, der Schneidersche Rapid-Formaldehyd-Desinfektor und der Breslauer resp. Flüggesche Apparat zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd hinsichtlich ihres Desinfektionseffektes als gleichwertig zu betrachten sind.

Die Beantwortung einiger Fragen, die sich aus den oben eingehend registrierten Versuchen uns aufdrängen, wie die Möglichkeit einer Erhöhung der Desinfektionswirkung, die Erklärung der schlechteren Wirkung des Formalins auf feuchte Testobjekte im Gegensatz zu trockenen, sowie die Zweckmäfsigkeit der Heranziehung des Tierexperimentes an Stelle des Kulturverfahrens beim Nachweis nach der Formaldehydeinwirkung eventuell noch lebensfähig gebliebener Tuberkelbazillen und die aus der Beantwortung dieser Fragen sich ergebenden Schlüsse für die Praxis, behalte ich mir für eine in kurzer Zeit zu veröffentlichende Arbeit vor.

Experimentelle Beiträge zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. II. Teil.

Von

Dr. **Engels,**

früher I. Assistenten des Institutes, z. Z. kommissarisch beauftragt mit der Leitung der bakteriologischen Untersuchungsstation bei der Kgl. Regierung zu Stralsund.

(Aus dem Kgl. hygienischen Institute zu Posen.)

Die in meiner ersten Arbeit über die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd niedergelegten Resultate meiner Versuche ermutigten nicht nur zu neuen Prüfungen, sondern beförderten noch eine Reihe von Fragen herauf, die in der folgenden Abhandlung nun Gegenstand der Besprechung sein sollen.

Auf Grund meiner Versuche war ich bekanntlich zu dem Schlufsergebnis gekommen, dafs die beiden von mir geprüften Apparate, der Schneidersche Rapid-Formaldehyd-Desinfektor und der Flüggesche Apparat zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd hinsichtlich ihres Desinfektionseffektes als gleichwertig zu betrachten sind. Das war auch die Ursache, weshalb ich zu den folgenden Versuchsreihen nur den Schneiderschen Rapid-Desinfektor benutzt habe.

Wenngleich in einer ganzen Reihe von Versuchen mit verschiedenartigem Testmaterial mit Sicherheit regelmäfsig 100% Sterilität erreicht werden konnten, wie z. B. bei Einwirkung des Formaldehyds auf Diphtheriebazillen, Choleravibrionen und Streptokokken — auch die Tuberkelbazillen konnten, nachdem sie der Desinfektion ausgesetzt gewesen waren, auf unseren Nährböden

nicht mehr zum Wachstum gebracht werden —, so darf anderseits doch nicht verschwiegen werden, dafs eine zweite Serie von Testobjekten, wie die Friedländerschen Bazillen und der diesem ähnliche, aus einer Meerschweinchenlunge isolierte Bacillus glutinosus pulmonum, weiter die Dysenterie-, die sporenfreien Milzbrand- und die Typhusbazillen, von den Eitererregern der Staphylococcus pyogenes aureus und endlich die Milzbrandsporen teilweise eine erhebliche Resistenz gegenüber dem Formaldehyd an den Tag gelegt haben. Trat dieselbe schon bei dem an sterilen Seidenfäden angetrockneten Material, wenn auch nur äufserst minimal hervor, so zeigten sich die feuchten Bakterienfäden manchmal doch aufserordentlich stark widerstandsfähig. So war es mir in zwei Versuchen durchaus nicht möglich, auch nur eine einzige Milzbrandspore abzutöten.

Es lag deshalb der Gedanke und die Möglichkeit nahe, auf irgendeine Weise eine Erhöhung der Desinfektionswirkung, vielleicht sogar eine unter allen Umständen sichere Abtötung sämtlicher Keime, nicht nur der vegetativen, sondern auch der sporogenen zu erzielen.

Mit Beantwortung dieser Frage beschäftigte sich daher zunächst die folgende Versuchsreihe.

III. Versuchsreihe.

Als Versuchsraum diente das auch in den ersten Versuchsreihen mitbenutzte »Nebenzimmer«. Dasselbe hat eine Gröfse von:

2,45 = 2 m Länge,
2,80 = 3 » Höhe und
4,00 = 4 » Breite,

demnach einen Kubikinhalt von 24 cbm. Ein gröfserer Raum konnte schon deshalb nicht zum Versuch herangezogen werden, da der mir zur Verfügung stehende und von der Fabrik Eduard Schneider, Hannover, Grünstrafse 1, gütigst überlassene Rapid-Formaldehyd-Desinfektor zu klein war, so dafs es sogar vorkam, dafs während des Verdampfens der Desinfektionslösungen (doppelte Menge) auch noch nicht vergaste Flüssigkeit mit aus dem Kupferkessel hervorsprudelte. Dadurch ging natürlich für die Zimmer-

desinfektion ein Teil verloren, der jedoch, wie wir sehen werden, bezüglich des Resultates ohne Belang war.

Die Versuchsanordnung blieb dieselbe, wie ich sie für die ersten Prüfungen schon früher beschrieben habe.

Ich füllte den Apparat dieses Mal mit der doppelten Menge der eigentlich für unsere Zimmergröfse vorgeschriebenen Lösungen, um zu eruieren, ob auf diese Weise ein besserer Erfolg zu erzielen sei. Statt eines Raumes von rund 25 cbm nahm ich einen solchen von 50 cbm Rauminhalt an, und, da die Desinfektionsdauer wiederum auf $3^1/_2$ Stunden abgekürzt werden sollte, waren zur jedesmaligen Beschickung des Rapid-Formaldehyd-Desinfektors erforderlich: 800 ccm Formalin,

2400 » Wasser,

700 » Spiritus und

zur Ammoniak-Verdampfung:

1000 cbm Ammoniak,

100 » Spiritus.

Quer durch den Raum waren eine Reihe Stricke gespannt, über die Arbeitsmäntel, Handtücher und sonstiges Material, welches eine möglichst grofse Oberfläche bot, ausgebreitet waren. Aufserdem blieb der im Zimmer befindliche Schrank, weit geöffnet, an seinem Platze, desgleichen eine Kiste und mehrere Bretter.

Ich stellte mit der doppelten Menge Reagentien 3 Versuche an. Versuch 9, 10 und 11. Als Testobjekte dienten wiederum:

1. Typhusbazillen,
2. Diphtheriebazillen,
3. Milzbrandsporen,
4. Choleravibrionen,
5. Sporenfreie Milzbrandbazillen,
6. Bazillus Friedländer,
7. Streptokokken,
8. Staphylococcus pyogenes aureus,
9. Dysenteriebazillen.
10. Bacillus glutinosus pulmonum,
11. Tuberkelbazillen,

als Menstruum sterile Seidenfäden. Zum Teil waren die Bakterien in der bekannten Weise an den Seidenfäden angetrocknet, zum Teil blieben letztere bis zum jedesmaligen Versuche in der vom Agar aufgeschwemmten Bouillonkultur liegen. Zur Aufnahme der Fäden wurden sterile Petrische Schälchen bereit gehalten, welche in möglichst schräger Richtung aufgestellt wurden, um dem Formaldehyd den Zutritt zu den Bakterien zu erleichtern. Jedes Schälchen enthielt 22 Fäden, 11 trockene und 11 feuchte. Bei den folgenden Versuchen beschränkte ich mich auf drei Schalen, von denen zwei auf kleinen Tragbrettern an der Wand in 1 und 2 m Höhe, eins in der äufsersten Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden exponiert wurden. Ein viertes Schälchen mit 22 infizierten Seidenfäden wurde ohne Deckel in ein dichtes Bündel Zeug gehüllt, um die Tiefenwirkung der verwendeten, immerhin doch grofsen Menge Formalins kennen zu lernen. Die Oberflächenwirkung wurde durch Ausstreichen von Staphylococcus pyogenes aureus- und von Streptokokken-Agarkulturen auf ausgebreitete Leinwand und nachheriges Abimpfen von diesen Stellen auf Nährboden festgestellt. Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse wurden nicht mehr beobachtet, einmal weil die Tür dieses Zimmers kein Fensterchen besafs, dann auch der Zeitersparnis wegen, da ich mir während der ersten acht Versuche schon hinreichend Aufschlufs über diese Dinge verschafft hatte.

Das Resultat der in der beschriebenen Weise angestellten Versuche war das in Tabelle XIX, XX und XXI auf S. 177 und 178 angegebene.

In jedem der 3 obigen Versuche ist das Ergebnis ein überraschend günstiges gewesen. Sämtliche Testobjekte, von dem wenig widerstandsfähigen Choleravibrio an bis zu den resistenten Milzbrandsporen, sind durch den Formaldehyd derart beeinflufst worden, dafs sie mit Hilfe unserer Kulturmethoden nicht mehr zum Wachstum gebracht werden konnten. Es gelingt demnach, mit der doppelt so grofsen Quantität Formalinwasserlösung als angegeben, einen sicheren Desinfektionseffekt zu erzielen. Es fragt sich nur, ist es zweckmäfsig, für die Praxis die gröfseren Quantitäten für die Wohnungsdesinfektion zu empfehlen?

Tabelle XIX.

Versuch, angestellt am 4. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Raume: Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äußerste Ecke des Zimmers auf dem Fußboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Typhus	—	—	—	—	—	—
Diphtherie	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen	—	—	—	—	—	—
Cholera	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen	—	—	—	—	—	—
Friedländer	—	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—
Tuberkelbazillen	—	—	—	—	—	—

Tabelle XX.

Versuch, angestellt am 5. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Raume: Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äußerste Ecke des Zimmers auf dem Fußboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Typhus	—	—	—	—	—	—
Diphtherie	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen	—	—	—	—	—	—
Cholera	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen	—	—	—	—	—	—
Friedländer	—	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—
Tuberkelbazillen	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXI.

Versuch, angestellt am 6. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Raume					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Typhus	—	—	—	—	—	—
Diphtherie	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen	—	—	—	—	—	—
Cholera	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen	—	—	—	—	—	—
Friedländer	—	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—
Tuberkelbazillen	—	—	—	—	—	—

Bedenken wir, dafs für diesen Fall alle unsere Apparate zu klein angelegt sind, — es gilt das sowohl für die Schneiderschen wie für die Flüggeschen Desinfektoren, denn schon bei den vorstehend registrierten Versuchen konnte es nicht verhindert werden, dafs ein Teil der verdampfenden Desinfektionslösung aus den am Verdampfer befindlichen und möglichst verschlossen gehaltenen Öffnungen hervorsprudelte und so für die Desinfektion verloren ging —, bedenken wir weiter, dafs auch etwas geringere Mengen als das Zweifache der vorgeschriebenen Lösungen, wenn sie auch denselben Effekt zeitigen, den gleichen Nachteil darbieten würden, so bin ich nicht imstande, prinzipiell vorderhand gröfsere Mengen Formalins zur Verdampfung zu empfehlen. Dazu bedürfen wir in gröfserem Mafsstabe angelegter Apparate. Aus diesem Grunde habe ich weitere Versuche nach dieser Richtung hin auch unterlassen, da ich mir für die Praxis keinen nennenswerten Erfolg von denselben versprechen kann. Auch würde der nötige Mehrverbrauch an Formalin, Ammoniak

und Spiritus die Wohnungsdesinfektion erheblich auf die Dauer verteuern und deren allgemeine Einführung vielleicht hemmen. Auch hat die Prüfung auf Tiefenwirkung gezeigt, dafs es auch mit der doppelten Menge Formalin nicht möglich ist, die in ein Bündel Zeug eingehüllten Testobjekte, auch wenn die umgebende Schicht nur in einfacher Lage die Bakterienfäden umgibt, abzutöten. Die Oberflächenwirkung war hingegen stets nachweisbar.

Jedenfalls haben auch meine Resultate bewiesen, dafs die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd geeignet ist, bei den am häufigsten auftretenden Infektionskrankheiten die oberflächlich gelegenen Keime mit Sicherheit unschädlich zu machen. Ich halte mich berechtigt, die mit den Seidenfäden erzielten Erfolge auch auf die Praxis zu übertragen, insofern der gasige Formaldehyd, so wie derselbe die an Seidenfäden haftenden Bakterien abgetötet hat, auch die an beschmutzten Wäscheteilen befindlichen Infektionskeime zu vernichten imstande sein wird.

Nun haben wir aber gesehen, dafs die Formaldehyddesinfektion häufiger im Stich gelassen hat, wenn wir das Gas statt auf an Seidenfäden angetrocknete Bakterien auf feuchte Agarbouillonkulturfäden einwirken liefsen.

Es soll deshalb jetzt noch die Frage ventiliert werden, sollen wir für die Praxis die Forderung aufstellen, beschmutzte Gegenstände und zwar in erster Linie infizierte Wäsche zur Erreichung des sicheren Desinfektionserfolges nur nach deren möglichster Trocknung dem Formaldehydgase auszusetzen? Nach den bisherigen Versuchen könnte man dazu sich berechtigt fühlen.

Meine weiteren Versuche, welche bezweckten, eine Erklärung für die schlechtere Wirkung des Formaldehyds auf feuchte Testobjekte im Gegensatz zu trocknen zu finden, haben mich jedoch zur Verneinung dieser Frage geführt.

IV. Versuchsreihe.

Die Anzahl der Testobjekte wurde in dieser Versuchsreihe reduziert, indem nur diejenigen Bakterienarten zum Versuch herangezogen wurden, welche während der beiden ersten Ver-

suchsreihen teilweise nicht abgetötet worden waren. Hierher gehören:

1) Staphylococcus pyogenes aureus,
2) Sporenfreie Milzbrandbazillen,
3) Milzbrandsporen,
4) Bacillus glutinosus pulmonum,
5) Bacillus Friedländer,
6) Typhus- und
7) Dysenteriebazillen.

In der Herstellungsart der trocknen und feuchten Kulturseidenfäden änderte sich nichts. Als Versuchsraum wurde der früher schon genannte »Vorraum« des grofsen Versuchszimmers gewählt, welches

eine Länge	von	3,60 = 4 m,	
» Höhe	»	2,80 = 3 »	und
» Breite	»	4,00 = 4 »,	

demnach einen Rauminhalt von 48 cbm, rund 50 cbm; besitzt.

Die für diese Zimmergröfse zu verwendenden Lösungen sind (laut Tabelle) für den Formalinverdampfer des Rapid-Formaldehyddesinfektors:

Formalin	800 ccm,
Wasser	2400 »
Spiritus	700 »

für den Ammoniakverdampfer:

Ammoniak . . .	1000 ccm,
Spiritus	100 »

Da nun, wie ich oben schon erwähnte, diese Versuchsreihe den Zweck hat, nach der Ursache der schlechteren Wirkung des Formaldehyds auf die feuchten Seidenfäden gegenüber den trocknen zu forschen, so habe ich die Versuchsanordnung geändert.

Ich mufs hier zurückgreifen auf das, was ich in meiner ersten Arbeit über die Formaldehyddesinfektion über die Anfertigung der Testobjekte schon gesagt habe. Als Ausgangsmaterial wurde der Bakterienrasen einer Agarkultur genommen; die Bakterien wurden in Bouillon aufgeschwemmt und in diese sterile

Seidenfäden übermittelt. Ein Teil wurde 6—8 Stunden bei Brüttemperatur getrocknet, ein Teil direkt aus der Kulturflüssigkeit heraus zum Versuch benutzt. Da nun die angetrockneten Bakterien stets eher abgetötet werden konnten als die an den feuchten Fäden haftenden, so konnte man in erster Linie an eine Abschwächung der Lebens- und Wachstumsfähigkeit der angetrockneten Bakterien schon vor der Formaldehydwirkung und eine daraus resultierende leichtere und schnellere Abtötung denken. Wenngleich diese Vermutung als zurecht bestehend von vornherein nicht ganz von der Hand zu weisen war, so konnte die Antrocknung wohl schwerlich die alleinige Ursache sein, da die von den feuchten sowohl wie von den trocknen Bakterienfäden angelegten Kontrollkulturen regelmäfsig gleich schnelles und gleich intensives Wachstum zeigten. Nun blieben aber nur noch zwei Gründe übrig, welche die eigenartige Resistenz der feuchten Fäden hätten erklären können, einmal der zu grofse Wassergehalt der Fäden und damit die Verdünnung des Formaldehydgases auf ein Minimum und die daraus sich ergebende Minimalwirkung des Formalins, oder aber der Gehalt der Aufschwemmungsbouillon an Pepton, welches naturgemäfs auch auf die Fäden übergehen mufste und dann eventuell eine Verbindung mit dem Formalin einging. Reagensglasversuche mit Formalin und aufgelöstem Pepton haben mich in der Tat überzeugt, dafs Formalin und Pepton einen unlöslichen Niederschlag in bestimmten Mischungsverhältnissen bilden, welchen ich nicht erhielt, wenn ich eine kleine Menge Peptonlösung bei Brüttemperatur eintrocknete und sodann darauf Formalin gofs. Das Experiment wurde wiederholt, indem ich Formalin einmal auf stark mit Peptonlösung getränkte, sodann auf mit derselben Peptonlösung durchfeuchtete und nachher bei Brüttemperatur 6 Stunden getrocknete Fäden einwirken liefs. Dabei zeigte sich stets ein flockiger Niederschlag bei Berührung des Formalins mit den feuchten Peptonfäden, nicht jedoch mit den trocknen. Als Peptonlösung kam eine 1 proz. zur Verwendung. Auf die Ursachen des eigenartigen Verhaltens des Formalins gegenüber feuchten und

trocknen Peptonfäden einzugehen, ist hier nicht der Ort. War damit eine Antwort für die oben aufgeworfene Frage gegeben, so war immerhin die Möglichkeit noch vorhanden, dafs auch der überreichliche Wassergehalt gleichzeitig nachteilig hätte wirken können. Um das festzustellen, wurden von mir noch eine Reihe von Versuchen angestellt, die jetzt Gegenstand der Besprechung sein sollen.

Versuch 12, 13 und 14. Die dazu gehörigen Tabellen sind Tabellen XXII, XXIII und XXIV. Das Resultat dieser 3 Versuche war demnach folgendes:

Sterilität wurde erzielt:

Versuch 12.

	a) mit feuchtem Testmaterial	b) mit trockenem Testmaterial
bei Staph. pyog. aur.	in 100 % der Fälle	in 100 % der Fälle
» Milzbrandbazillen	» 100 » » »	» 100 » » »
» Typhus	» 100 » » »	» 100 » » »
» Bac. glut. pulm. .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Dysenterie . . .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Friedländer . .	» 100 » » »	» 66,6 » » »
» Sporen	» 100 » » »	» 66,6 » » »

Versuch 13.

	a) mit feuchtem Testmaterial	b) mit trockenem Testmaterial
bei Staph. pyog. aur.	in 100 % der Fälle	in 100 % der Fälle
» Milzbrandbazillen	» 100 » » »	» 100 » » »
» Dysenterie . . .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Bac. glut. pulm. .	» 100 » » »	» 66,6 » » »
» Friedländer . .	» 66,6 » » »	» 100 » » »
» Typhus	» 66,6 » » »	» 66,6 » » »
» Milzbrandsporen	» 66,6 » » »	» 0,0 » » »

Versuch 14.

	a) mit feuchtem Testmaterial	b) mit trockenem Testmaterial
bei Staph. pyog. aur.	in 100 % der Fälle	in 100 % der Fälle
» Milzbrandbazillen	» 100 » » »	» 100 » » »
» Milzbrandsporen .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Bac. glut. pulm. .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Dysenterie . . .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Friedländer . .	» 100 » » »	» 100 » » »
» Typhus	» 100 » » »	» 33,3 » » »

Tabelle XXII. **Versuch, angestellt am 12. VI. 03. Kontrollen positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Staph. pyog. aur. .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	—	—	—	—	—	+
Milzbrandbazillen .	—	—	—	—	—	—
Typhus	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm. .	—	—	—	—	—	—
Dysenterie . . .	—	—	—	—	—	—
Friedländer . . .	—	—	—	—	—	+

Tabelle XXIII. **Versuch, angestellt am 13. VI. 03. Kontrollen positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Staph. pyog. aur. .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	—	+	—	+	+	+
Milzbrandbazillen .	—	—	—	—	—	—
Typhus	—	—	—	—	+	+
Bac. glutin. pulm. .	—	—	—	—	—	+
Dysenterie . . .	—	—	—	—	—	—
Friedländer	—	—	—	—	+	—

Tabelle XXIV. **Versuch, angestellt am 15. VI. 03. Kontrollen positiv.**

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Staph. pyog. aur. .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen .	—	—	—	—	—	—
Typhus	—	+	—	—	—	+
Bac. glutin. pulm. .	—	—	—	—	—	—
Dysenterie . . .	—	—	—	—	—	—
Friedländer . . .	—	—	—	—	—	—

Wir erhalten daher in Prozenten folgendes Endresultat (Mittelwerte):

Tabelle XXV.

a) bezüglich der feuchten Fäden:

Testobjekte	Versuch XII	Versuch XIII	Versuch XIV	Mittelwerte
Staph. pyog. aur.	100 %	100 %	100 %	100 %
Milzbrandbazillen	100 »	100 »	100 »	100 »
Bac. glutin. pulm.	100 »	100 »	100 »	100 »
Dysenterie	100 »	100 »	100 »	100 »
Friedländer	100 »	66,6 »	100 »	88,8 »
Typhus	100 »	66,6 »	100 »	88,8 »
Milzbrandsporen	100 »	66,6 »	100 »	88,8 »

Tabelle XXVI.

b) bezüglich der trockenen Fäden:

Testobjekte	Versuch XII	Versuch XIII	Versuch XIV	Mittelwerte
Staph. pyog. aur.	100 %	100 %	100 %	100 %
Milzbrandbazillen	100 »	100 »	100 »	100 »
Dysenterie	100 »	100 »	100 »	100 »
Bac. glutin. pulm.	100 »	66,6 »	100 »	88,8 »
Friedländer	66,6 »	100 »	100 »	88,8 »
Typhus	100 »	66,6 »	33,3 »	66,6 »
Milzbrandsporen	66,6 »	0,0 »	100 »	55,5 »

Bei den vorstehenden Versuchen war eine Verdünnung des Formalins im Verdampfer nicht vorgenommen worden. Es wurden nur die 800 ccm Formalin vergast und nun der Einfluſs des Formaldehyds auf die verschiedenen Testobjekte beobachtet. Legen wir die erhaltenen Mittelwerte zugrunde, so haben wir dieses Mal mit den feuchten Fäden relativ bessere Resultate erhalten als mit den trockenen. Eines Kommentars zu den beiden Tabellen XXV und XXVI bedarf es wohl nicht.

Aus diesen Versuchen glaube ich den Schlufs ziehen zu dürfen, dafs ein bestimmter Wassergehalt bei der Formalindesinfektion vorhanden sein mufs, dafs ferner bei den ersten Versuchsreihen die schlechtere Wirkung des Formaldehyds auf die feuchten Testobjekte nicht der zu reichliche Wassergehalt beschuldigt werden kann.

Meine Ansicht wurde in überzeugendster Weise noch durch die folgenden drei Versuche bestätigt, für welche die nötigen Testobjekte derart hergestellt wurden, dafs die Agarreinkulturen nicht in Bouillon, also in einer Pepton enthaltenden Nährflüssigkeit, sondern in sterilem Wasser aufgeschwemmt wurden. Als Testobjekte dienten wiederum die sieben Bakterienarten, die uns aus den Versuchen 12, 13 und 14 bekannt sind; weiterhin wurden wieder feuchte und trockne Bakterienfäden benutzt. Der Versuchsraum blieb derselbe, die Desinfektion wurde genau nach Vorschrift, also auch mit Einschlufs der Verdünnung der 40proz. Formalinlösung, vorgenommen.

Tabelle XXVII, XXVIII und XXIX geben uns das Resultat der Versuche 15, 16 und 17 wieder.

Tabelle XXVII.

. Versuch, angestellt am 16. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Staph. pyog. aur. .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen .	—	—	—	—	—	—
Typhus	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm. .	—	—	—	—	—	—
Dysenterie . . .	—	—	—	—	—	—
Friedländer . . .	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXVIII.

Versuch, angestellt am 17. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Staph. pyog. aur. .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen .	—		—	—	—	—
Typhus	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm. .	—	—	—	—	—	—
Dysenterie . . .	—	—	—	—	—	—
Friedländer . . .	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXIX.

Versuch, angestellt am 18. VI. 03. Kontrollen positiv.

Testobjekte	Expositionsstelle im Zimmer					
	Tragbrett an der Wand in 1 m Höhe		Tragbrett an der Wand in 2 m Höhe		Äufserste Ecke des Zimmers auf dem Fufsboden	
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken
Staph. pyog. aur. .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen .	—	—	—	—	—	—
Milzbrandbazillen .	—	—	—	—	—	—
Typhus	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm. .	—	—	—	—	—	—
Dysenterie . . .	—	—	—	—	—	—
Friedländer . . .	—	—	—	—	—	—

Es ist mir also mit Leichtigkeit gelungen, sämtliche Testobjekte mittels des Rapid-Desinfektors und unter Verwendung von »Wasserkulturfäden« in jedem der drei Versuche abzutöten. Ich kann dieses Resultat als eine Bestätigung meiner oben schon geäufserten Ansicht auffassen, dafs die in den früheren Versuchen beobachtete gröfsere Widerstandsfähigkeit der feuchten Bakterienfäden einzig und allein auf die Anwesenheit des Peptons in der Aufschwemmungsflüssigkeit zurückzuführen ist und nicht auf

den zu reichlichen Wassergehalt, auch nicht auf eine wesentliche Abschwächung der angetrockneten Bakterien.

Auf den ersten Blick könnte diese Tatsache als von untergeordneter Bedeutung erscheinen. Demgegenüber ist hervorzuheben, daſs einmal zwecks Einführung einer einwandfreien Methodik bei Prüfungen mit Formalin es nicht angängig ist, Bakterien in Pepton enthaltender Flüssigkeit aufzuschwemmen; desgleichen dürfen als Ausgangsmaterial nicht Bouillon- oder Peptonwasserreinkulturen verwendet werden, da wir sonst denselben Versuchsfehler begehen würden. Es bleibt daher nur die vorsichtige Aufschwemmung der Bakterien in sterilem Wasser als die beste Methode zur Gewinnung von Seidenfäden-Testobjekten übrig. Auf die Herstellung einer möglichst feinen Emulsion in der Bakterienaufschwemmung ist dabei das gröſste Gewicht zu legen.

Ich möchte noch bemerken, daſs die letzten drei Versuche auſserordentlich günstig ausgefallen sind; ich bin weit davon entfernt, anzunehmen, daſs z. B. die Sporen in allen Fällen nun sofort vernichtet würden.

Noch ein kurzes Wort über die Seidenfadenmethodik. Habe ich für die Prüfung der bakteriziden Wirkung einer flüssigen Desinfektionslösung schon früher[1]) die von mir modifizierte Granatenmethode als diejenige empfohlen, welche die einwandfreiesten Resultate zu liefern imstande ist, so bin ich zwecks Feststellung der keimtötenden Wirkung des Formaldehyds, also eines gasförmigen Desinfziens, zur Seidenfadenmethodik zurückgekehrt. Hierdurch glaube ich den Verhältnissen in der Praxis, wo der Formaldehyd nicht nur die auf Wäschegegenständen, sondern auch die in dem Gewebe selbst befindlichen Keime unschädlich machen soll, ziemlich nahe zu kommen.

Inwieweit sich dieses bewahrheitet, soll die folgende und letzte Versuchsreihe darlegen.

1) Engels, Untersuchungen über die bakterizide Wirkung in Alkohol gelöster Desinfizientien auf Bakterienkulturen. Centralbl. f. Bakteriol. etc., Bd. XXXIII, Nr. 10.

V. Versuchsreihe.

Der Zweck dieser fünften Versuchsreihe war, festzustellen, ob die in den bisherigen Versuchen gewonnenen Resultate auch auf die Praxis übertragen werden könnten, ob der Schneidersche Rapid-Formaldehyd-Desinfektor auch unter den Voraussetzungen, wie sie die Praxis bietet, imstande ist, ausreichende desinfizierende Wirkung auszuüben. Es wurden deshalb fortab als Menstruum Leinenstückchen von ca. 25 qcm Gröfse genommen. Das käufliche Leinen wurde in drei Modifikationen verwendet: zunächst das im Handel erhältliche appretierte Leinen, sodann das gründlich gewaschene, welches keine Appretur mehr enthielt, und schliefslich leicht gestärkte Leinwand. Sämtliche Leinenstückchen wurden, nachdem sie in einer Schale im strömenden Dampfe keimfrei gemacht worden waren, mit den Testobjekten imprägniert während mehrerer Stunden; teilweise wurden sie bei Bruttemperatur getrocknet, zum Teil blieben sie in der Kulturflüssigkeit bis zum Gebrauche liegen. Getrocknet wurden die Läppchen gewöhnlich 6 Stunden im Brutschrank, die mit Tuberkelbazillen imprägnierten jedoch nur 2 Stunden. Stets wurde der gewachsene Rasen einer Agarreinkultur in Wasser aufgeschwemmt, gestützt auf die in den vorigen Versuchsreihen gemachten Erfahrungen. Statt einer Reinkultur von Cholera nahm ich künstlichen Cholerastuhl; Typhus wurde in künstlichem Typhusstuhl und in Reinkultur dem Formaldehyd ausgesetzt. Um mir jedoch den Nachweis der Typhus- resp. der Cholerakeime nach der Desinfektion zu erleichtern, wurde in jedem Falle der fein verteilte diarrhöische Stuhl eine Stunde im strömenden Dampfe sterilisiert und dann erst in denselben die wässerige Kulturaufschwemmung übermittelt und mit den Fäces gut vermengt. Zur Herstellung der Tuberkelbazillen-Testobjekte wurde eine gröfsere Menge eines tuberkulösen Sputums genommen, dieselbe 1 Stunde im strömenden Dampfe sterilisiert und dann eine in Wasser fein verriebene Tuberkelbazillenreinkultur dem sterilisierten Sputum zugesetzt. Zum Nachweise von nach der Desinfektion noch lebensfähig und virulent gebliebenen Tuberkelbazillen wurde

nur das Tierexperiment aus den oben erwähnten Gründen herangezogen. Leider gestatete unser Fonds zur Beschaffung der Laboratoriumstiere mir nur die Bereitstellung einer beschränkten Anzahl Meerschweinchen. Die Überimpfung auf die Meerschweinchen geschah in der Weise, daſs am Bauche nach Abrasieren der Haare eine möglichst umfangreiche Hauttasche mit Hilfe steriler Instrumente gesetzt und in diese hinein ein Läppchen implantiert wurde. Für den Verschluſs der Wundöffnung wurde durch Naht oder Kollodium stets gesorgt.

Bei allen anderen verwendeten Testobjekten kam in bekannter Form das Kulturverfahren wieder zu seinem Rechte, indem die Läppchen mit Hilfe einer zweiten Person in Bouillon übertragen wurden.

Als Testobjekte dienten Läppchen, imprägniert mit:

1. Reinkultur von Friedländer,
2. » » Bacillus glutinosus pulmonum,
3. » » Staphylococcus pyogenes aureus,
4. » » Dysenterie,
5. » » Milzbrandsporen,
6. » » sporenfreien Milzbrandbazillen,
7. » » Typhusbazillen,
8. künstlichem tuberkulösem Sputum,
9. » Typhus-Stuhl und
10. » Cholera-Stuhl.

Ich hoffe, somit den weitaus am meisten vorkommenden Verhältnissen der Praxis Rechnung getragen zu haben.

Die einzelnen Läppchen wurden vermittelst sterilen Blumendrahtes an mehreren durch die Lichtung des Zimmers gespannten Bindfäden befestigt. Ein solcher Versuch nahm einen ganzen Tag in Anspruch und benötigte stets noch eine zweite Person. Nach dem Versuche wurden die Läppchen zu dreien — da von jedem Testobjekte stets drei Läppchen zur Verwendung gelangten — schnell in ein steriles Schälchen gelegt und die Fortsetzung des Versuches in meinem Laboratorium vorgenommen. Im ganzen wurden 166 Testläppchen frei aufgehängt.

Auch die Temperaturen und die Feuchtigkeitsgrade wurden in allen Versuchen abgelesen; dieselben bieten jedoch dasselbe Bild wie früher, so dafs ich es unterlasse, die beobachteten Zahlen hier nochmals wiederzugeben.

Als Versuchsraum diente unser »Vorraum« von 50 cbm Rauminhalt. Die zur Desinfektion nötigen Lösungen sind oben schon angegeben.

Versuch 18.

(Siehe Tabelle XXX auf S. 192.)

Abgetötet wurden demnach:

	a) von trockenen Testobjekten			b) von feuchten Testobjekten		
	Appretiert. Leinen	Gewasch. Leinen	Gestärkt. Leinen	Appretiert. Leinen	Gewasch. Leinen	Gestärkt. Leinen
Friedländer . . in	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Dysenterie . . . »	100 »	100 »	100 »	100 »	66,6 »	33,3 »
Bac. glut. pulm. . »	66,6 »	100 »	100 »	66,6 »	100 »	33,3 »
Staph. pyog. aur. »	100 »	100 »	66,6 »	100 »	100 »	33,3 »
Milzbrandbazillen »	100 »	100 »	66,6 »	100 »	100 »	100 »
Typhus . . . . »	66,6 »	66,6 »	100 »	66,6 »	66,6 »	33,3 »
Milzbrandsporen . »	33,3 »	100 »	33,3 »	33,3 »	33,3 »	0,0 »
Typhus-Stuhl . . »	33,3 »	0,0 »	0,0 »	100 »	33,3 »	0,0 »
Cholera-Stuhl . . »	66,6 »	33,3 »	33,3 »	66,6 »	0,0 »	0,0 »

Die hierher gehörigen Tierversuche sind folgende: Versuch I, II, III und IV (siehe auch Tabelle XXX):

Versuch I.

M. Nr. 240. Nase, Rücken und beide Vorderfüfse rot.

Geimpft 27. VI. 03. Gewicht 608 g.

3. VII. 560 g, 2 grofse ulcera an der Impfstelle; Eiter.
7. » 550 g, beginnende Vernarbung, sonst θ.
11. » 530 g, Befund θ.
22. » 522 g, »
28. 540 g, »
5. VIII. 525 g, »
14. » 540 g, »
16. IX. 530 g, »
1. X. 520 g, »

Versuch II.

M. Nr. 241. Nase rot, Rücken gelb. Gravid.

Geimpft 27. VI. 03. Gewicht 715 g.

3. VII. 676 g, kleines ulcus, Rötung, Eiter.
7. » 703 g, 2 cm lange und ½ cm breite Anschwellung an der Impfstelle.
11. » 680 g, glatte Vernarbung.
22. » 750 g, Befund äufserlich θ.
28. » 780 g, » »
5. VIII. 780 g, » »
13. IX. † Sektion: starker blutiges Ascites, Därme stark injiziert, Milz blaurot, vergröfsert, zahlreiche Tuberkelknötchen in Lunge und Milz.

Versuch III.

M. Nr. 247. Nase rot, beide Hinterfüfse gelb.

Geimpft 27 VI. 03. Gewicht 165 g.

3. VII.	160 g.	Wenig Reaktionserscheinungen an der Impfstelle.
7. ›	179 g.	Vernarbt.
11. ›	170 g.	Befund äufserlich θ.
22. ›	187 g.	› ›
28. ›	195 g.	› ›
5. VIII.	202 g.	› ›
7. ›		† Sektion: Tuberkulose beider Lungen. Vereinzelte Knötchen.

Versuch IV.

M. Nr. 248. Nase rot, beide rechte Füfse gelb.

Geimpft 27. VI. 03. Gewicht 445 g.

3. VII.	439 g.	Eiterige Wunde.
7. ›	446 g.	Vernarb.; äufs. Bef. θ.
11. ›	432 g.	› ›
22. ›	455 g.	› ›
28. ›	460 g.	› ›
5. VIII.	510 g.	› ›
14. ›	510 g.	› ›
26. ›		† Sektion: Inguinaldrüsen beiderseits erbsengrofs; Milz klein und von fast schwarzer Farbe. Rechte Oberlappen mäfsig mit Tuberkelknötchen durchsetzt.

Der positive Tuberkelbazillenbefund im gefärbten Präparat war erst für die Diagnose »Tuberkulose« mafsgebend.

Wie die Zahlen der Tabelle zeigen, wurden die besten Erfolge erzielt mit den an gewaschener, nicht appretierter Leinwand haftenden Bakterienarten. Es folgen sodann die Testobjekte an appretierter Leinwand, und die schlechtesten Resultate weisen die gestärkten Leinwandläppchen auf. Eine Erklärung können wir nur darin finden, dafs die Appretur resp. die benutzte Stärke die Bakterien teilweise mit einer schützenden Hülle umgibt und so dieselben dem Einflufs des Formaldehyds entzieht. Erst bei Übertragung der Testobjekte in die Nährlösung werden die Bakterien wieder frei und wachsen in der Bouillon. In genau derselben Weise sind die durchweg schlechten Resultate mit mit Cholera- und Typhus-Stuhl beschmutzten Wäscheteilen zu erklären.

Das auffallendste Resultat zeigen die Versuche mit dem tuberkulösen Sputum. Von vier Versuchs-Meerschweinchen starben drei an Tuberkulose. Nur das Tier, welches das gewaschene, mit tuberkulösem Sputum imprägnierte und nachher getrocknete Läppchen implantiert erhalten hat, blieb am Leben. Es geht daraus hervor, dafs bezüglich der Tuberkulose das Tierexperiment das entschieden feinere Reagens und als solches der Kulturmethodik (siehe Teil I) vorzuziehen ist.

Tabelle XXX. **Versuch, angestellt am 28. VI. 03. Kontrollen positiv.**

Läppchen-Testobjekte mit:	Trockene Testobjekte: Appretierte Leinenläppchen			Trockene Testobjekte: Gewaschene Leinenläppchen ohne Appretur			Trockene Testobjekte: Gestärkte Leinenläppchen			Feuchte Testobjekte: Appretierte Leinenläppchen			Feuchte Testobjekte: Gewaschene Leinenläppchen ohne Appretur			Feuchte Testobjekte: Gestärkte Leinenläppchen		
Typhus	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	+	+	+	−
Friedländer	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Bac. glutin. pulm.	−	−	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	+	−
Staph. pyog. aur.	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	+	+	−
Dysenterie	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	+
Milzbrandsporen	+	−	+	−	−	−	+	+	−	+	+	−	+	+	−	+	+	+
Milzbrandbazillen	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Künstl. tuberk. Sputum				siehe Tierversuch I			siehe Tierversuch II						siehe Tierversuch III			siehe Tierversuch IV		
Künstl. Typhus-Stuhl	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	+	+	+
Künstl. Cholera-Stuhl	+	−	−	+	+	−	+	+	−	+	−	−	+	+	+	+	+	+

Tabelle XXXI. **Versuch, angestellt am 3. VII. 03. Kontrollen positiv.**

Läppchen-Testobjekte mit:	Trockene Testobjekte: Appretierte Leinenläppchen			Trockene Testobjekte: Gewaschene Leinenläppchen ohne Appretur			Trockene Testobjekte: Gestärkte Leinenläppchen			Feuchte Testobjekte: Appretierte Leinenläppchen			Feuchte Testobjekte: Gewaschene Leinenläppchen ohne Appretur			Feuchte Testobjekte: Gestärkte Leinenläppchen		
Typhus	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Friedländer	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−
Bac. glutin. pulm	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Staph. pyog. aur.	−	−	−	−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+
Dysenterie	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Milzbrandsporen	−	+	−	+	−	−	+	+	+	−	−	−	+	−	−	−	+	−
Milzbrandbazillen	+	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−
Künstl. tuberk. Sputum				siehe Tierversuch V			siehe Tierversuch VI						siehe Tierversuch VII			siehe Tierversuch VIII		
Künstl. Typhus-Stuhl	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	−
Künstl. Cholera-Stuhl	−	−	−		−			−	−	−	−	+	+	+		−	−	−

Versuch 19.

(Siehe Tabelle XXXI auf S. 192.)

Sterilität wurde erreicht:

	a) Trockene Testobjekte			b) Feuchte Testobjekte		
	Appretiert. Leinen	Gewasch. Leinen	Gestärkt. Leinen	Appretiert. Leinen	Gewasch. Leinen	Gestärkt. Leinen
Bac. glut. pulm. . in	100 %	100 %	100 %	66,6 %	100 %	100 %
Typhus . . . . . »	100 »	100 »	100 »	100 »	100 »	66,6 »
Friedländer . . . »	66,6 »	100 »	100 »	100 »	66,6 »	66,6 »
Dysenterie . . . . »	100 »	33,3 »	100 »	100 »	66,6 »	100 »
Milzbrandbazillen »	66,6 »	100 »	66,6 »	66,6 »	66,6 »	100 »
Staph. pyog. aur.. »	100 »	66,6 »	66,6 »	0,0 »	33,3 »	0,0 »
Milzbrandsporen. »	66,6 »	66,6 »	0,0 »	100 »	66,6 »	66,6 »
Cholera-Stuhl . . »	100 »	100 »	100 »	66,6 »	33,3 »	100 »
Typhus-Stuhl . . »	0,0 »	0,0 »	33,3 »	0,0 »	33,3 »	33,3 »

Tierversuche V, VI, VII und VIII (siehe auch Tabelle XXXI):

Versuch V.

M. Nr. 261. Rücken rot, linker Vorder- und rechter Hinterfufs gelb.

Geimpft 3. VII. 03. Gewicht 255 g.

7. VII. 260 g. Eiterige Entzündung an der Impfstelle.

11. » 240 g. Kein Eiter mehr, beginnende Vernarbung.

22. » 275 g. Äufserer Befund 0.

28. » 295 g. » »

5. VIII. 300 g. » »

14. » 333 g. » »

16. IX. 360 g. » »

1. X. 345 g. » »

Versuch VI.

M. Nr. 258. Rücken rot, beide rechte Füfse gelb.

Geimpft 3. VII. 03. Gewicht 264 g.

7. VII. 260 g. Eiterige Entzündung an der Impfstelle.

11. » 260 g. Desgl.

22. » 290 g. Kein Eiter mehr; Vernarbung.

28. » 310 g. Äufserer Befund 0.

5. VIII. 309 g. » »

14. » 343 g. » »

16. IX. 395 g. » »

1. X. 380 g. » »

Versuch VII.

M. Nr. 259. Rücken rot, beide linke Füfse gelb.

Geimpft 3. VII. 03. Gewicht 289 g.

7. VII. 298 g. Geringe Eiterung an der Impfstelle.

11. » 295 g. Äufserer Befund 0.

22. » 355 g. » »

28. » 330 g. » »

5. VIII. 340 g. » »

14. » 360 g. » »

16. IX. 485 g. » »

1. X. 456 g. » »

Versuch VIII.

M. Nr. 257. Rücken rot, beide Hinterfüfse gelb.

Geimpft 3. VII. 03. Gewicht 313 g.

7. VII. 315 g. Seröse Flüssigkeit an der Impfstelle; sonst 0.

11. » 315 g. Wunde in Heilung begriffen.

22. » 332 g. Völlige Vernarbung.

28. » 352 g. Befund 0.

5. VIII. 360 g. » »

14. » 392 g. » »

16. IX. 460 g. » »

1. X. 455 g. » »

Die Tiere sind durchschnittlich 3 Monate im Versuch geblieben; kein Tier ist an Tuberkulose zugrunde gegangen.

Bezüglich der übrigen Resultate ist hervorzuheben, daſs die Versuche mit Cholera- und Typhus-Stuhl wiederum am wenigsten befriedigen; die anderen Ergebnisse bieten nichts besonderes dar.

Versuch 20.

Tabelle XXXII.

Versuch, angestellt am 6. VII. 03. Kontrollen positiv.

Läppchen-Testobjekte mit:	Trockene Testobjekte								
	Appretierte Leinenläppchen			Gewaschene Leinenläppchen ohne Appretur			Gestärkte Leinenläppchen		
Typhus	+	—	—	—	+	—	—	+	—
Friedländer	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Staph. pyog. aur.	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Milzbrandsporen	—	—	—	+	+	—	+	—	—
Milzbrandbazillen	—	—	—	—	+	—	+	—	—
Künstl. tuberk. Sputum				siehe Tierversuch IX			siehe Tierversuch X		
Künstl. Typhus-Stuhl	+	+	—	—	—	+	+	—	—
Künstl. Cholera-Stuhl	+	—	—	—	—	—	+	+	—

Fortsetzung zu Tabelle XXXII.

Läppchen-Testobjekte mit:	Feuchte Testobjekte								
	Appretierte Leinenläppchen			Gewaschene Leinenläppchen ohne Appretur			Gestärkte Leinenläppchen		
Typhus	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Friedländer	—	—	—	—	—	—	+	+	—
Bac. glutin. pulm.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staph. pyog. aur.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dysenterie	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Milzbrandsporen	+	—	—	—	—	—	+	+	—
Milzbrandbazillen	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Künstl. tuberk. Sputum				siehe Tierversuch X			siehe Tierversuch XII		
Künstl. Typhus-Stuhl	+	—	—	+	+	—	+	+	—
Künstl. Cholera-Stuhl	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Es wurden demnach abgetötet:

	a) von trockenen Testobjekten			b) von feuchten Testobjekten		
	Appretiert. Leinen	Gewasch. Leinen	Gestärkt. Leinen	Appretiert. Leinen	Gewasch. Leinen	Gestärkt. Leinen
Typhus . . . . in	66,6 %	66,6 %	66,6 %	100 %	100 %	66,6 %
Friedländer . . ›	66,6 ›	100 ›	100 ›	100 ›	100 ›	33,3 ›
Bac. glut. pulm. . ›	100 ›	100 ›	66,6 ›	100 ›	100 ›	100
Staph. pyog. aur. ›	33,3 ›	100 ›	100 ›	100 ›	100 ›	100 ›
Dysenterie . . . ›	100 ›	100 ›	66,6 ›	100 ›	100 ›	66,6 ›
Milzbrandsporen . ›	100 ›	33,3 ›	66,6 ›	66,6 ›	100 ›	33,3 ›
Milzbrandbazillen ›	100 ›	66,6 ›	66,6 ›	100 ›	100 ›	66,6 ›
Cholera-Stuhl . . ›	66,6 ›	100 ›	33,3 ›	100 ›	100 ›	100 ›
Typhus-Stuhl . . ›	33,3 ›	66,6 ›	66,6 ›	66,6 ›	33,3 ›	33,3 ›

Tierversuche IX, X, XI und XII (siehe auch Tabelle XXXII):

Versuch IX.

M. Nr. 266. Nase rot, Rücken violett.
Geimpft 6. VII. 03. Gewicht 204 g.
11. VII. 182 g. Geringe Reaktionserscheinungen.
22. › 213 g. Befund äufserlich θ.
28. › 232 g. › ›
5. VIII. 240 g. › ›
14. › 273 g. › ›
16. IX. 380 g. › ›
1. X. 380 g. › ›

Versuch X.

M. Nr. 256. Rücken rot, beide Vorderfüfse gelb.
Geimpft 6. VII. 03. Gewicht 286 g.
11. VII. 252 g. Eiterige Entzündung an der Impfstelle.
22. › 259 g. Kein Eiter, Rötung.
28. › 282 g. Vernarbung; Befund äufserlich sonst θ.
5. VIII. 295 g. Desgl.
14. › 326 g. ›
16. IX. 365 g. ›
1. X. 360 g. ›

Versuch XI.

M. Nr. 262. Nase, Rücken rot, rechter Vorderfufs gelb.
Geimpft 6. VII. 03. Gewicht 320 g.
11. VII. 294 g. Geringe Rötung an der Impfstelle, kein Eiter.
22. › 305 g. Vernarb., äufs. Bef. θ.
28. › 320 g. › › ›
5. VIII. 330 g. › › ›
14. › 335 g. › › ›
15. IX. † Sektion. Stark abgemagert, milchig, weifser Ascites, kirschengrofser Abszefs in der Leber, Tuberkulose der Milz, des Netzes, beider Lungen.

Versuch XII.

M. Nr. 254. Rücken rot, rechter Hinterfufs gelb.
Geimpft 6. VII. 03. Gewicht 206 g.
11. VII. 162 g. Geringe Rötung an der Impfstelle.
22. › 202 g. Beginnende Vernarbung.
28. › 212 g. Narbe stark eingezogen. Befund sonst θ.
5. VIII. 230 g. Desgl.
14. › 245 g. ›
16. IX. 390 g. ›
1. X. 335 g. ›

Versuch 20 ähnelt in jeder Beziehung dem Versuch 19 bezüglich der erzielten Resultate, sowohl hinsichtlich der trocknen und feuchten Testobjekte wie des Bakterienmaterials an den verschieden präparierten Leinwandstückchen und rücksichtlich der Beeinflussung der Typhusbazillen resp. der Choleravibrionen im diarrhöischen Stuhl.

Von den geimpften Tieren ist wiederum eins an Tuberkulose eingegangen (Tier XI).

Fassen wir die Resultate der drei letzten Versuche nochmals summarisch zusammen, so ergibt sich folgendes Schlufsergebnis: Im allgemeinen müssen die zuletzt erzielten Erfolge mit denjenigen der früheren Versuche unter Zuhilfenahme der Seidenfadenmethode als übereinstimmend betrachtet werden. Bedenken wir, dafs wir es bei der Imprägnierung von ca. 25 qcm grofsen Läppchen mit enorm gröfserem Bakterienmaterial zu tun haben, welches zum Teil von festen Schichten der Stärke, des Kotes etc. umgeben ist und so, wie ich oben schon auseinandergesetzt habe, um so schlechter von dem Formaldehyd beeinflufst wird, so können uns die immerhin etwas geringeren diesmaligen Prozentzahlen nicht überraschen.

Wenn Abba und Rondelli (a. a. O.) behaupten, dafs die mit Formaldehyd ausgeführte Desinfektion in »allen« Fällen eine unvollständige sei, so mufs ich dem auf Grund meiner Gesamtresultate entschieden widersprechen. Allerdings gebe ich zu, dafs die Wirksamkeit des Formaldehyds auch nach meinen Versuchen nicht stets eine gleichmäfsige und konstante ist, in der Mehrzahl der Fälle aber hat sie sich den einzelnen Testobjekten gegenüber als gleich erwiesen. Ein weiterer Nachteil ist das geringe Penetrationsvermögen des Formaldehydgases, was von sämtlichen Autoren bisher bestätigt worden ist. Nochmals möchte ich an dieser Stelle besonders betonen, dafs es mir in keinem Falle mit Hilfe der Kulturmethodik gelungen ist, die dem Formaldehyd ausgesetzt gewesenen Tuberkelbazillen zum Wachstum zu bringen. Das in der letzten Versuchsreihe hinzugezogene Tierexperiment hat dagegen eindeutig den Beweis

geliefert, dafs in vielen Fällen (nach meinen Versuchen in 1/3 der Fälle) die im Sputum befindlichen Tuberkelbazillen nach der Einwirkung des Formaldehyds noch lebensfähig und wenigstens für das Meerschweinchen virulent bleiben. Ich glaube, wenn ich in all meinen Versuchen, in denen ich mit Tuberkelbazillen-Reinkulturen statt mit tuberkulösem Sputum arbeitete, die Seidenfäden Meerschweinchen in eine Hauttasche implantiert hätte, so würde ich die letzten Tierversuche noch glänzender bestätigt gefunden haben. Es ist sehr zu bedauern, dafs der Formaldehyd gerade bei dieser am weitest verbreiteten Volkskrankheit teilweise versagt. Eine andere Frage ist allerdings die, ob die vom Formaldehyd nur wenig beeinflufsten Tuberkelbazillen noch imstande sind, den menschlichen Organismus zu schädigen. Diese Frage möchte ich nicht so ohne weiteres beantworten.

Wenn ich trotz der Nachteile, welche die Formaldehyd-Desinfektionsmethode sicherlich hat, dieselbe empfehle, so geschieht es aus dem Grunde, weil wir erstens keine Methode haben, welche uns bessere Resultate liefert, da auch der Formaldehyd bei einer bestimmten Konzentration die gröfste Zahl der Keime vernichtet, und weil wir zweitens keine Methode kennen, welche so leicht zu erlernen ist wie die Formalindesinfektion. Auf den letzteren Punkt möchte ich einen ganz besonderen Nachdruck legen, da die Wohnungsdesinfektion heutzutage in 9/10 der Fälle in den Händen des niederen Heilpersonals liegt, an deren Intelligenz, wie uns vielfache Erfahrung aus unseren Desinfektorenkursen gelehrt hat, wir so wie so schon nicht allzugrofse Anforderungen stellen dürfen.

Bezüglich der Technik der Formalinverdampfung kann die Wahl zwischen dem Flüggeschen (Breslauer-) Apparate zur Wohnungsdesinfektion und dem Schneiderschen Rapid-Formaldehyd-Desinfektor, da der Desinfektionseffekt beider Apparate gleichwertig ist, frei bleiben.

Versuche über die Einwirkung des Trimethylxanthins auf das Bacterium typhi und coli.

Von

Emil Roth, phil.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

(Mit Tafel I.)

In seiner Arbeit »Zur Bekämpfung des Typhus« schreibt Musehold[1]) in bezug auf den von Drigalski-Conradischen Nährboden, durch welchen man bei der Isolierung von Typhusbazillen bis jetzt die günstigsten Resultate erzielt hatte:

»Ob mit Hilfe dieses Werkzeuges auch die letzten noch bestehenden Unsicherheiten für die Erkennung des Typhus in jedem einzelnen Fall weggeräumt werden können, bleibt fraglich, weil die Abscheidung der Typhusbazillen in der Regel keine stetige ist und in den leichten Fällen mit nur geringfügigen Lokalisationen eine so seltene sein wird, dafs bei Nichtanstellung täglicher Untersuchungen die Wahrscheinlichkeit für die Nichtauffindung der Bazillen ungleich gröfser sein wird wie für den Nachweis. So günstig, wie bei dem Nachweis der Choleravibrionen im Stuhl, stehen die Verhältnisse beim Typhus jedenfalls nicht. Auch bleibt noch abzuwarten, ob das v. Drigalski-Conradische Verfahren in jedem Typhusfalle eine besonders frühzeitige Erkennung des Typhus ermöglicht, da ja die Ausscheidung der Typhusbazillen aus den Peyerschen Plaques in

1) P. Musehold, Deutsche Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege 1902, Heft 4

reichem Mafse erst nach Öffnung der Follikel einzutreten pflegt.«

Aufser den Fällen also, wo die Ausscheidungen der Kranken oder das damit verunreinigte Wasser die Bazillen in reichlicher Menge zeigen, ist es gewöhnlich ein Ding der Unmöglichkeit, sie nachzuweisen. Diese oft erprobte Tatsache, dafs es selten gelingt einen Keim zu isolieren, wenn dessen Zahl in einem zu kleinen Verhältnisse steht zu der Menge der ihn begleitenden Bakterien, zeigt auch den Weg, auf dem man vorgehen mufs, um zu einem positiven Resultat zu gelangen. Es ist von vornherein die Aufgabe gestellt, die Zahl der Begleitbakterien so zu vermindern, dafs dadurch ein Nachweis des gesuchten Keimes möglich ist. In unserm Falle ist es die Gruppe des Bact. coli und seiner verwandten Arten, die die Gefahr nahelegen, durch ihr ubiquitäres Vorkommen, ihre grofse Zahl und durch die Fähigkeit, alle schädigenden Einflüsse bedeutend leichter zu überwinden als das Bact. typhi, dieses zu überwuchern und so der Diagnose zu entziehen.

Wie sind nun die bis jetzt vorhandenen Methoden vorgegangen, um diese Schwierigkeit aus dem Wege zu räumen?

Das Nächstliegende war, mit entwicklungshemmenden Stoffen, die man dem Nährboden zusetzte, die Begleitbakterien ganz oder doch wenigstens solange zurückzuhalten, dafs dadurch für das Bact. typhi eine günstigere Wachstumsbedingung geschaffen wurde.

Eine grofse Zahl von Autoren hat auch diesen Weg beschritten, indem sie durch irgend einen Zusatz solcher Stoffe zu flüssigen oder festen Nährmedien zum Ziele zu kommen glaubten.

Thoinot[1]) suchte 1887 aus dem Seinewasser Typhusbazillen zu isolieren, indem er zu je 100 ccm des Wassers 0,25 g reiner Karbolsäure setzte und dann mit Proben dieses Wassers Gelatineplatten gofs. Ebenso benutzte Péré[2]) und Vincent[3])

1) Thoinot, Sem. méd., 1887, VII, 135.
2) Péré, Annales de l'institut Pasteur, 1891, 79.
3) Vincent, Annales de l'institut Pasteur, 1890, 772.

die Karbolsäure, die sie der Bouillon zufügten, zur Auffindung des Eberth schen Bazillus aus dem Wasser, während Parietti[1]) mit einer Mischung von Karbol- und Salzsäure zum Ziele zu kommen glaubte und Rawitsch-Stcherba[2]) dem α-Naphtol den Vorzug gab.

Alle diese erwähnten Methoden sind von verschiedenen Autoren geprüft worden und alle haben sich im negativen Sinne geäufsert. Lösener[3]) schreibt darüber:

»Bei Anlegung von Vorkulturen habe ich, wenn auch die Höhe des Zusatzes jener Stoffe so bemessen war, dafs die Typhusbazillen dadurch in ihrem Wachstume nicht gehemmt wurden, nur ungünstige Ergebnisse gehabt. Wenn auch verflüssigende Bakterien durch Zugabe von Karbolsäure, Salzsäure, α-Naphtol u. a. zu den Nährlösungen meist nicht zur Entwicklung gelangen, so wird das Wachstum des Bact. coli comm. und ähnlicher Arten dadurch in keiner Weise unterdrückt werden und auf die Anwesenheit dieser Keime wird man bei allen Untersuchungen rechnen müssen. Sobald ich Erdwasser- oder Fäbesproben, welche mit einer grofsen Menge Typhusbazillen künstlich vermischt waren, in eine 0,03—0,05 proz. Karbolsäurebouillon — ein Prozentsatz, der das Wachstum der Typhusbakterien allein in keiner Weise beschränkte — impfte und nach 24 Stunden daraus Gelatineplatten anlegte, so gelangten auf denselben fast ausschliefslich das Bakt. coli und ähnliche Arten zur Entwicklung, Typhusbazillen konnte ich nur in ganz seltenen Fällen auffinden.«

Besser gestalten sich die Verhältnisse bei den Autoren, die solche Stoffe direkt dem festen Nährboden zusetzten. Eine Menge Begleitbakterien konnten auch hier eliminiert werden, das Bact. coli aber, das sich immer vorfand, sollte durch seine Gröfse, Farbe und Gestalt der Kolonien von denjenigen des Bact. typhi leicht unterschieden werden können.

1) Parietti, Ref. Hyg. Rundschau, 1891, 337.

2) Rawitsch-Stcherba, Ref. Hyg. Rundschau, III, 392.

3) Lösener, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, 1895, 207.

Auf dieses Prinzip begründeten Chantemesse und Widal[1]), die ihrer Nährgelatine 0,25 proz. Karbolsäure zusetzten, ihre Methode. Ein gleiches Resultat versuchte Riedel[2]) 1887 mit einem Zusatz von Jodtrichlorid zu erhalten, der eine Menge Bakterien ausschalten, Typhus aber ungehemmt entwickeln lassen sollte. Holz[3]) beschreibt 1890 einen Nährboden, auf dem er ein sehr charakteristisches Typhuswachstum erzielt haben will. Er versetzte ausgeprefsten Kartoffelsaft mit Gelatine und 0,05 proz. Karbolsäure, ein Nährboden, den Elsner[4]) beibehielt nur mit der Modifikation, dafs er an der Stelle der Karbolsäure 1 proz. Jodkali anwendete. Nach seiner Beschreibung erhielt er im Gegensatze zu dem Bact. coli, dessen Kolonien schon nach 24 Stunden fast vollständig ausgewachsen sind, erst nach 48 Stunden kleine, wassertropfenähnliche, hellglänzende und fein granulierte Typhuskolonien. Einen sehr kompliziert zusammengesetzten Nährboden, den er auch mit einen Karbolzusatz versieht, beschreibt 1890 Remy[5]).

Was die Methode von Chantemesse und Widal, sowie das Verfahren von Riedel anbetrifft, so wurde durch die Nachprüfungen von Holz[6]) und Dunbar[7]) deren Unbrauchbarkeit nachgewiesen. Der letztere Autor berichtet auch über seine mit der Holzschen Kartoffelgelatine erzielten Resultate und kommt zu dem Schlusse, dafs das charakteristische Wachstum der Typhuskolonien nur eine Entwicklungshemmung durch die Säurezugabe darstelle, und dafs dieser Zusatz eben auch in gleicher Weise auf die typhusähnlichen Keime wirke und deshalb eine sichere Unterscheidung oft sehr in Frage stelle; ebenso wurde auch durch Grimbert und Besson, die dem Elsnerschen Verfahren vorwarfen, durch die leicht eintretende, durch Wasser- und Fäkal-

1) Chantemesse et Widal, Archiv de physiol. norm. et pathol., 1887, III, 217.

2) Riedel, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, 1887, II.

3) Holz, Zeitschr. f. Hygiene, 1890, VIII, 143.

4) Elsner, Zeitschr. f. Hygiene, 1896, XXI.

5) Remy, Ref. Centralbl. f. Bakteriol., XXIX, 459.

6) Holz, a. a. O.

7) Dunbar, Zeitschr. f. Hygiene. 1892, 485.

bakterien verursachte Verflüssigung seien einwandsfreie Resultate nicht zu erzielen, dieses vielfach modifiziert.

Suchten alle diese Untersucher durch irgendwelche Zusätze die Hemmung von begleitenden Bakterien zu bewirken, so glaubten wieder andere durch hohe oder tiefe Temperaturen, denen sie die geimpften Substrate oder auch nur die zu untersuchenden Medien aussetzten, zum Ziele zu gelangen. Rodet[1]) hielt zu diesem Zwecke seine mit 20—100 ccm verdächtigen Wassers beschickte Bouillon bei 45°, ähnlich gingen auch Vincent[2]) und Foote[3]) vor, welch letzterer seine beimpften Agarplatten, die er zu diesen Versuchen benutzte, bei einer Temperatur von 40° hielt. Um aus Fäces Typhuskeime herauszuzüchten, empfiehlt Grawitz[4]) die Stühle durchfrieren zu lassen, sie nach 12—24 Stunden wieder aufzutauen und durch Plattenaussaat in Holzscher Kartoffelgelatine weiter zu untersuchen. Alle diese Versuche scheiterten an der gleichen Klippe wie die früher erwähnten. Durch die gleich hohe oder noch höhere Resistenz des Bact. coli und seiner verwandten Arten allen diesen angewendeten Schädigungen gegenüber war an einen Erfolg dieser Verfahren nicht zu denken.

Auf ein ganz anderes Prinzip gründen sich die folgenden Verfahren, die die biologischen Verschiedenheiten der Typhusbazillen und des Bact. coli und ähnlicher Arten zur Differentialdiagnose heranzogen.

Die von Pfeffer studierten Eigenschaften der beweglichen Bakterienarten, von gewissen anorganischen wie organischen Stoffen angezogen oder abgestofsen zu werden, die positive und negative Chemotaxis, wie er diesen Vorgang nannte, benutzte Ali Cohen[5]) als Isolierungsmittel für das Bact. typhi. Zu diesem Zwecke brachte er mit rohem Kartoffelsaft gefüllte Kapillaren in das zu untersuchende Material, sei es nun Wasser

---

1) Rodet, Lyon. méd., 1887, Bd. 55.
2) Vincent, Sem. méd., 1890, Nr. 6.
3) Foote, Ref. Schmidts Jahrbücher, Bd. 237.
4) Grawitz, Ref. Centralbl. f. Bakteriol., XII, 729.
5) Ali Cohen, Centralbl. f. Bakteriol., VIII, 161.

oder aufgeschwemmter Stuhl. Die Nutzlosigkeit dieser Methode liegt aber klar auf der Hand, indem aufser den Typhusbakterien eben alle in diesem Medium sich befindlichen beweglichen Arten angelockt werden und dazu sind auch die Coli und coliähnlichen Keime zu rechnen. Diese Endresultate werden auch durch die Nachuntersuchungen, die Lösener[1]) ausführte, bestätigt.

Zu besseren Resultaten ist Gabritschewsky[2]) gekommen, der ebenfalls die Beweglichkeit des Bact. typhi benutzte, um den Keim zu isolieren. Er bedeckte zu diesem Zwecke eine Agarplatte mit einem feuchten, sterilen Fliefspapierblättchen, in dessen Zentrum er das Bakteriengemisch impfte. Nach einigen Stunden hatten sich die beweglichen Typhusbazillen bis auf weitere, in verschiedenen Abständen vom Zentrum aufgelegte kleine Fliefspapierblättchen fortbewegt, die er dann in Bouillon brachte. Auf diese Weise konnte er auch das Bact. typhi aus dem Gemisch von verschiedenen unbeweglichen Coliarten trennen. Die beweglichen Stämme suchte er dadurch unbeweglich und zur Fortbewegung ungeeignet zu machen, dafs er das Bakteriengemisch mit einem hochwertigen Coliserum versetzte. Ob aber diese Methode praktisch zur Isolierung von Typhuskeimen aus Wasser, Fäces etc. zu verwenden ist, bleibt doch fraglich, wie er selbst zugibt. Selbst wenn die mitisolierten, beweglichen fremden Bakterienarten kein Hindernis bildeten, so sind es aber die zahlreichen beweglichen Coliarten und die typhusähnlichen Keime, die das Resultat zweifelhaft machen, da es eben doch nicht anzunehmen ist, dafs bei der unzweifelhaften Artverschiedenheit der die Gruppe der Bact. coli und Verwandten zusammensetzenden Bakterien ein mit irgend einem Colistamm immunisiertes Tier ein Blutserum liefert, das auf alle diese Arten agglutinierend wirkt.

Ebenso entsprachen diejenigen Verfahren, bei denen durch die Einwirkung der Bakterien auf gewisse Farbstoffe eine Unterscheidung der beiden Keime möglich sein sollte, nicht immer den Erwartungen.

1) Lösener, a. a. O.
2) Gabritschewsky, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 35, 1900.

Es gilt dieses einmal von dem von Grancher und Deschamps angewendeten Noeggerathschen Nährboden[1]), der darauf beruht, dafs eine Anzahl Anilinfarben, welche den Spektralfarben entsprechen, gemischt und dem Nährboden zugesetzt werden. Die Keime sollten sich durch die verschiedene Färbung, die ihre Kolonien annehmen, unterscheiden lassen. Holz[2]), der sich eingehend mit dem Nährboden beschäftigt hatte, fafst die Summe seiner Resultate in den Satz zusammen, dafs sich aus dem absoluten Ergebnisse einer Kultur eines typhusverdächtigen Keimes in diesem Nährmedium nie ein Schlufs auf die Natur des betreffenden Bakteriums ziehen lasse, da das Ergebnis der Kultur durch die allerverschiedensten Umstände [Zusammensetzung des Farbengemisches, des Nährsubstrates, Reaktion und Luftzutritt etc.] aufserordentlich beeinflufst werde. Ebenso aussichtslos in praktischer Beziehung sind die Methoden von Gasser[3]), der die mehr oder mindere Entfärbung des mit Fuchsinlösung versetzten Agars als Unterscheidungsmerkmale angibt; ferner diejenige von Uffelmann[4]), der mit Hilfe einer mit Methylviolett gefärbten sauren Gelatine zum Ziele kommen will. Dunbar[5]) berichtet darüber, dafs dieses Verfahren nicht eine Erleichterung sondern eine Erschwerung der Aufgabe bedeute. Über den Marpmannschen Nährboden[6]), der durch Zusätze von reduzierten Farbstoffen hergestellt wird, fällt Lösener[7]) ein ähnliches absprechendes Urteil, indem nach diesem Autor auf diesem Substrate alle typhusähnlichen Keime genau in derselben Weise wachsen sollen wie das Bact. typhi selbst. Im Jahre 1898 veröffentlichte Rothberger[8]) einen Agarnährboden, dem er Neutralrot zufügte und der durch das Bact. coli infolge seiner reduzierenden Eigenschaften entfärbt wird, während zugleich

1) Noeggerath, Ref. Centralbl. f. Bakteriol, III, 481.
2) Holz, a. a. O.
3) Gasser, Sem. méd., 1890, 258.
4) Uffelmann, Berliner klin. Wochenschr., 1891, Bd. XVIII, 857.
5) Dunbar, a. a. O.
6) Marpmann, Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XVI, 817.
7) Lösener, a. a. O.
8) Rothberger, Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XXIV, 513.

eine starke Fluoreszenz des Nährbodens eintritt. Im Gegensatz dazu soll Typhus den Nährboden unverändert lassen. Die gleiche Reduktionserscheinung tritt nach diesem Verfasser auch beim Safranin auf, das allerdings nicht nur durch das Bact. coli Entfärbung zeigt, sondern auch durch eine ganze Zahl anderer Keime, während beim Neutralrot diese Einwirkung für das Bact. coli spezifisch sein soll. Für die nähere Identifizierung eines typhusverdächtigen Keimes ist die Methode sicher von Vorteil, was auch durch die häufige Anwendung bestätigt wird.

Viel Aussicht auf Erfolg hatten die Methoden, die auf der Fähigkeit des Bact. coli, Rohr- und Milchzucker zu vergären, beruhten; die durch die Spaltung der Kohlehydrate nun entstandenen Produkte, Milchsäure etc., verliehen dem Nährboden eine saure Reaktion im Gegensatze zu dem Bact. typhi, das diese Fähigkeit für Rohr- und Milchzucker nicht besitzt. Durch Zusatz von Lackmus, Phenolphthalein oder Rosolsäure konnte dieser Reaktionsumschlag des Nährmediums zur Anschauung gebracht und infolgedessen eine Unterscheidung der zwei Keimarten ermöglicht werden.

Auf diesem Prinzipe beruht die von Petruschky[1]) angegebene Methode mit Hilfe von Lackmusmolke. Frische, durch Salzsäure von Kasein befreite neutralisierte Milch wird mit Lackmuslösung versetzt und mit den verdächtigen Keimen beimpft. Allerdings wird hier die Unterscheidung des Bact. typhi von ähnlichen Arten nicht durch einen von der Säurebildung hervorgerufenen Farbenumschlag bewirkt, da in der Lackmusmolke auch die Typhusbazillen Säurebildner sind. Die titrimetrische Messung der gebildeten Säure aber gibt ein Mittel in die Hand, Typhus von typhusähnlichen Keimen zu trennen, da es feststeht, daſs das Bact. typhi nicht über 3, das Bact. coli und verwandte Arten nicht unter 7 % Säure produzieren. Diese Säureproduktion der Typhusbazillen steht nun scheinbar im Widerspruch mit dem früher Gesagten, wonach dieser Keim nicht imstande ist, die Laktose anzugreifen. Durch das Sterilisieren aber und den

1) Petruschky, Centralbl. f. Bakteriol., 1889, VI, 625.

Säurezusatz zu der Milch wird die Laktose in Zuckerarten übergeführt, die durch das Bact. typhi zerspalten werden können. [Lösener.[1])]

Auf ähnliche Weise stellte auch Wurtz[2]) einen Lackmusnährboden durch Zusatz von Milchzucker und Lackmuslösung zu gewöhnlichem Nähragar her, den dann Mathews zu Wasseruntersuchungen benutzte. Die Typhuskeime sollen im Gegensatze zu dem Bact. coli, das den Nährboden rötet, diesen nicht verändern. Lösener[1]) bemerkt aber dazu: »Sobald ich mit Typhusbazillen versetzte Proben in den Wurtzschen Nährboden brachte, so fand ich auch dann, wenn nur wenige Kolonien des Bact. coli sich entwickelt hatten, in sehr kurzer Zeit fast den ganzen Nährboden gerötet. Nur bei sehr starker Verdünnung erreichten die Kolonien des Typhusbazillus eine zur Diagnose notwendige Gröfse, ohne von den roten Höfen der Colikolonien erreicht zu werden.«

In seiner 1897 veröffentlichten Arbeit: »Differenzierung der Typhusbazillen von Bact. coli commune durch die Ammoniakreaktion« schlägt Kashida[3]) einen Weg ein, auf dem er nicht die Säurebildung zur Diagnose verwertet, sondern die nachträglich auftretende alkalische Reaktion des eiweifshaltigen Nährbodens, zu deren Beschleunigung er dem Lackmusmilchzuckeragar noch Zusatz von 1% Harnstoff gibt. Die Ursache der Reaktionsänderung ist in der Tatsache zu suchen, dafs nach dem Abbau des Milchzuckers durch das Bact. coli und der damit verbundenen Säuerung des Nährbodens nur eine Zersetzung des Eiweifses und des Harnstoffes eintritt, deren Resultat eine durch Ammoniak hervorgerufene alkalische Reaktion ist. Die nach 16 Stunden auftretende rote Färbung des Nährbodens durch das Bact. coli geht dann in 24 Stunden wieder in eine blaue über, die sich auch den meisten Kolonien mitteilt, während die farblosen Typhuskolonien keine Veränderungen zeigen und auch keine solchen im Nährboden verursachen.

1) Lösener, a. a. O.
2) Wurz, Sem. méd., 1891, 491.
3) Kashida, Centralbl. f. Bakteriol., XXI, 1897, 302

In diesem Jahre veröffentlichten v. Drigalski und Conradi[1]) ein Verfahren, das ebenfalls auf diesem Prinzip begründet war, aber dessen Anwendung bis jetzt überall Resultate gezeitigt hat, die bislang noch von keiner andern Methode erreicht wurden. Im Grunde war es ja nichts als der schon erwähnte Wurtzsche Lackmuslaktoseagar, aber die Verfasser hatten es verstanden, die Mängel, die jenem anhafteten, zu beseitigen. Durch vergleichende Untersuchungen über die Einwirkung von Bact. typhi und coli auf die verschiedensten Kohlehydrate kamen sie zu dem Schlusse, dafs bei Oberflächenwachstum, d. h. also bei ungehindertem Luftzutritt, die beiden Bakterienarten gerade gegenüber dem Milchzucker ein sehr konstantes Verhalten zeigten. Sämtliche geprüften Colistämme bewirkten durch Zersetzung des genannten Kohlehydrats eine Säurebildung und infolgedessen eine Rotfärbung des mit Lackmus versetzten Nährbodens, während die Typhuskeime, denen die Fähigkeit Milchzucker anzugreifen abgeht, sich den Proteinsubstanzen zuwenden, deren Abbauprodukte eine alkalische Reaktion und somit eine Blaufärbung der Kolonien hervorrufen. Das öftere Versagen des Wurtzschen Nährbodens schreiben die Verfasser dem Umstande zu, dafs auf einen genügenden Luftzutritt nicht Rücksicht genommen wurde. Die Gefahr, dafs die besonders sich in Stühlen vorfindenden Kokken und andere Säurebildner die Platte gänzlich rot färben und damit eine Unterscheidung der verschiedenen Kolonien unmöglich machen, beseitigten Drigalski und Conradi dadurch, dafs sie durch einen Zusatz von Kristallviolett B Höchst in einer Verdünnung 1 : 100000 Nähragar die Entwicklung einer grofsen Zahl dieser Keime unterdrückten, ohne dadurch irgendeine Schädigung auf das Wachstum oder das Gährungsvermögen von Typhus oder Coli auszuüben.

Ferner wurde dem Nährboden, um dem Bact. typhi möglichst günstige Wachstumsbedingungen zu schaffen, 1% Nutrose zugefügt. Die nach 16—20 Stunden ausgewachsenen Kolonien

---

1) v. Drigalski und Conradi, Zeitschr. f. Hygiene, 1902, Bd. 39.

unterscheiden sich, abgesehen von der doppelten Gröfse derjenigen von Coli, durch die oben erwähnte Färbung; während Coli leuchtend rote und undurchsichtige Kolonien bildet, sind diejenigen vom Typhus blau, tautropfenähnlich und von glasiger Struktur. Alle auf diese Weise typhusverdächtigen Kolonien werden durch Agglutination mit einem hochwertigen Serum in einer Verdünnung 1 : 200 oder 1 : 1000 und durch Einstrich in den Neutralrotagar nach Rothberger genauer identifiziert.

Auf ganz anderen Voraussetzungen begründeten eine Anzahl Forscher ein Verfahren zur sicheren Isolierung der Typhuskeime. Es hatte nämlich 1895 Rosenthal[1]) die Beobachtung gemacht, dafs in nieder prozentuierter Gelatine die Typhuskolonien sich in eigentümlicher Weise entwickeln, indem sie lange Ausläufer bilden, ganz im Gegensatze zu dem Bact. coli, dessen Kolonien sich in normaler Weise entwickeln. Rosenthal benutzte dieses veränderte Wachstum auch als diagnostisches Hilfsmittel, hatte aber damit kein Glück, da spätere Nachprüfungen ergaben, dafs auch das Bact. coli oft in gleicher Weise Kolonien bildet.

Nicht besser erging es Stroddart[2]), dessen Nährboden aus einem Gemisch von 0,5 proz. Agar und 5 proz. Gelatine bestand. Einer Temperatur von 35° ausgesetzt, die für das Substrat so ziemlich die äufserste Grenze für den festen Zustand bildete, sollte Typhus eine diffuse Trübung hervorrufen, während das Bakt. coli eine geschlossene Auflagerung bilden und die Trübung auf die Stelle der Impfung beschränkt bleiben sollte. Der Autor musste aber die Unzulänglichkeit seiner Methode selbst zugeben, da in vielen Fällen auch das Bact. coli dieselbe diffuse Trübung hervorbrachte.

Bestimmtere Angaben machte ein Jahr später Hifs[3]), der diese Wachstumseigentümlichkeiten auf die Motilität des Bact. typhi zurückführte, das in weichen Nährböden aus diesem Grunde anders wachsen müsse als die minder oder gar nicht beweglichen Bakterien der Koligruppe. Für seinen Nährboden empfiehlt er des-

1) Rosenthal, Deutsches Archiv f. klin. Med., Bd. 55.
2) Stroddart, Ref. Hyg. Rundschau, 1898, VIII, 116.
3) Hifs, Ref. Hyg. Rundschau, 1899, IX, 1288.

halb ein aus 2 proz. Agar und 5 proz. Gelatine bestehendes Gemisch, das er mit 1 proz. Liebigschem Fleischextrakt und 1 proz. Kochsalz versetzte. Nach der Neutralisation auf den Phenolphthaleinrotpunkt fügte er noch 2 proz. Normalsalzsäure und Glukose zu. Auf diesem Nährboden sollten sich die Typhuskolonien, analog dem vorhergehenden Verfahren, durch ihr faden- oder büschelförmiges Wachstum von den ganz anders gewachsenen Kolonien des Bact. coli unterscheiden lassen. Zur weiteren Identifizierung wurden die verdächtigen Kolonien in einen ähnlich zusammengesetzten Nährboden überimpft, wo dann Typhus, ähnlich dem Stroddartschen Verfahren, eine diffuse Trübung, das Bact. coli hingegen eine solche nur an der Impfstelle oder ganz unregelmäfsig hervorbringen sollte.

Nachdem Piorkowski[1]) 1896 einen Nährboden, der aus 10—12 proz. Gelatine oder 2 proz. Agar bestand und bei dem er als Ersatz des Fleischwassers 0,5 % Peptonharn nach den Angaben Hellers anwandte, zur Typhusdiagnose geeignet, angegeben hatte und dessen Unbrauchbarkeit durch Krause dargetan wurde, veröffentlichte er 1899 ein einfaches Verfahren zur Sicherstellung der Typhusdiagnose. Dieses bestand in einer Verbindung der Rosenthalschen 3,3 proz. Gelatine mit dem oben erwähnten Hellerschen Verfahren, Harn als Substitut des Fleischwassers anzuwenden. Auf diesem so zusammengesetzten Substrate sollte nun das Bact. typhi die charakteristische Ausfaserung zeigen. Von verschiedenen Autoren aber wurde dargetan, dafs erstens nicht nur viele Typhuskolonien die Ausläuferbildung nicht zeigten, sondern dafs auch, wie schon allen diesen Methoden vorgeworfen wurde, eine grofse Zahl von Koliarten Kolonien bildeten, die sich in keiner Weise von denjenigen des Bact. typhi unterscheiden lassen [Wittich[2]), Bischoff und Menzer[3]), Hayaschikawa[4]) Peppler[5]), Clemm[6]) u. a. m.]. Sie anerkannten die

1) Piorkowski, Berliner klin. Wochenschr., 1899, 145.
2) Wittich, Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XXVI, 390.
3) Bischoff und Menzer, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 35, 307.
4) Hayaschikawa, Hyg. Rundschau, 1901, 925.
5) Peppler, Inaugural-Dissert., Erlangen 1900.
6) Clemm, Inaugural-Dissert., Giefsen 1900.

wesentliche Erleichterung der Typhusdiagnose durch den Piorkowskischen Harnnährboden, aber alle sprachen sich übereinstimmend dahin aus, dafs ohne nachträgliche Identifizierung der verdächtigen Kolonien es nicht statthaft sei, auf das Kolonienbild allein die Diagnose auf Typhus zu stellen.

In dem Bestreben, diese und andere Nachteile dieses Verfahrens, wie z. B. die Schwierigkeit im Sommer die 3 proz. Gelatine bei 22° zu halten, ferner die wechselnde und daher oft ungünstige Zusammensetzung des Nährbodens infolge des Harnzusatzes, welche eine praktische Anwendung auch anderweitig in Frage stellten, zu beseitigen, versuchten einige Autoren, die Methode entsprechend umzuändern.

Weil[1]) gab zu diesem Zwecke einen Nährboden an, bei dessen Zusammenstellung er ganz von der Gelatine absah, um so die leichte Schmelzbarkeit des Substrates zu verhindern. Er benutzte einen 0,75 proz. Kartoffelsaftfleischwasseragar ohne Harnzusatz, der den unverkennbaren Vorteil zeigte, 37°, also das Temperaturoptimum für das Bact. typhi auszuhalten. Die Unterscheidung der beiden Keimarten geschieht auf dieselbe Weise wie bei Piorkowski durch die Ausfaserung der Typhuskolonien, die der Verfasser nach 12—20 Stunden niemals bei den Kolonien des Bact. coli gefunden haben will. Die angestellten Nachprüfungen bestätigten aber die Angaben des Verfassers nicht. Krause[2]) sagt hierüber, nachdem er wechselnde Resultate mit dem Weilschen Verfahren erzielt hatte: »Die Mifserfolge mit dem Nährboden beruhen einmal auf der mangelhaften Fähigkeit, die Fadenbildung zu erzeugen, anderseits auf dem Vorhandensein des äufserst reichlichen Kondenswassers, welches der fast zerfliefsende 0,75 proz. Agar auspreſst. Wenn bei dem Weilschen Kartoffelagar zerfaserte Kolonien überhaupt beobachtet werden, so ist ihr Zustandekommen weniger auf die chemische Wirkung des Nährbodens, als auf seine exzessiv weiche Konsistenz zurückzuführen und das hieraus resultierende Unvermögen, selbst der gering-

1) Weil, Hyg. Rundschau, 1901, 485.

2) Krause, Archiv f. Hygiene, 1902, Heft 1.

fügigsten Tendenz der Kolonie zur Ausbreitung Widerstand entgegenzusetzen.

Er selbst kehrt bei der Herstellung seines Nährbodens[1]), den er in diesem Jahre veröffentlichte, wieder zum Harnzusatz zurück, da alle die diesbezüglichen Substrate, die bisher angegeben wurden, ein konstant gutes Resultat in bezug auf die Ausläuferbildung der Typhuskolonie ergaben. Um aber der wechselnden Zusammensetzung des Nährbodens durch Harnzusatz zu entgehen, suchte er nach den wirksamen chemischen Bestandteilen desselben. Ferner suchte er dem Nährboden durch weiche Konsistenz und sauere Reaktion alle die Eigenschaften zu geben, die das Bact. typhi zur Fadenbildung und damit zur Erzeugung der charakteristischen Kolon' 'n anreizen. So beschreibt er einen Harnstoffgelatineagar, auf dem die Typhuskolonien ihr ausgefasertes Bild zeigen, während sich die Kolonien des Bact. coli durch Gröſse, Farbe und durch ganz andere Wachstumseigentümlichkeiten leicht davon unterscheiden lassen.

Zieht man aus allen den schon gemachten Versuchen, das Bact. typhi aus der Zahl seiner Begleitbakterien zu isolieren, den Schluſs, so muſs man sich sagen, daſs alle diese Methoden, so wertvoll auch einige ohne Frage sind, doch nicht den Anspruch auf eine vollkommene Lösung der Aufgabe machen dürfen. Alle besitzen eben den Nachteil, daſs es mit ihrer Hilfe nicht gelingt, die Gruppe des Bact. coli auszuschalten. Suchten nun auch die verschiedenen Autoren diesem Mangel dadurch abzuhelfen, daſs sie die kulturellen und biologischen Verschiedenheiten der zwei Bakterienarten auf ihrem Nährboden auf irgendeine Weise zum Ausdrucke zu bringen suchten, so muſs man dem entgegenhalten, daſs es doch nur ein Notbehelf ist, der wohl nur in typischen Fällen ganz genügen kann, müssen wir doch die Gruppe des Bact. coli als eine Reihe einander nahestehender Arten auffassen, die demgemäſs auch verschiedene Verhältnisse aufweisen, die sich bald mehr zu den Eigentümlichkeiten des Bact. typhi, bald mehr zu denjenigen des typischen Bact. coli. hinneigen.

1) Krause, a. a. O.

Diese Übergangsstufen waren es ja, die einige Forscher wie Arloing, Rodet und Roux[1]) zu der Auffassung veranlafsten, dafs das Bact. typhi und das Bact. coli zwei Varietäten derselben pathogenen Art seien, welche sich in charakteristischen Eigenschaften voneinander unterscheiden, aber durch Zwischenstufen miteinander verbunden seien. Besonders hielten diese Autoren den menschlichen Körper für befähigt, das erstere in das letztere umzuwandeln.

Wie dem nun auch sei, jedenfalls ist dargetan, dafs diese wechselnden biologischen Eigenschaften doch nicht in allen Fällen ausreichen werden, um eine auf sie gegründete Differentialdiagnose als fest und sicher hinzustellen. Aufser diesem ist es noch ein weiteres Moment, das die absolute Brauchbarkeit auch der besten Methode eventuell in Frage stellt und das ist die Unmöglichkeit, mit ihrer Hilfe eine gröfsere Menge des zu untersuchenden Materials zu prüfen. Auf eine Vorkultur, d. h. auf ein Anreicherungsverfahren, mufste man ja bei der Anwesenheit von Bact. coli von vornherein verzichten und auf der Platte ist man eben nur auf sehr geringe Mengen des verdächtigen Mediums angewiesen. Gerade aber auch dieser Umstand mufs in Berücksichtigung gezogen werden, denn man wird oft nur mit ganz vereinzelten Keimen, sei es nun im Wasser oder im Stuhle, rechnen müssen. Wie nun, wenn die bis jetzt gebräuchlichen Methoden ein negatives Resultat geben, dieses formulieren? Von vornherein das Vorkommen der Keime verneinen, wäre nicht statthaft, denn entweder hat man mit dem geringen Quantum des untersuchten typhusverdächtigen Stoffes keinen Keim mit auf die Platte bekommen, oder die spärliche Zahl eventuell angegangener Keime wurde in der Fülle von andern Bakterien übersehen, sei es nun, dafs sie dadurch ihr charakteristisches Aussehen verloren, oder dafs sie durch die andern Keime in den Hintergrund gedrängt wurden. Solche Verhältnisse sind gewifs nicht selten, besonders bei Wasseruntersuchungen und, eine grofse Zahl von Mifserfolgen ist auf diesen Grund zurückzuführen.

---

1) Arloing, Rodet und Roux, Ref. Hyg. Rundschau, 1893, 777.

Dieser Nachteil aber würde durch eine Anreicherungsmethode beseitigt, denn erstens wäre es möglich, eine gröfsere Menge Material zu untersuchen und zweitens würde der vereinzelte Keim, angereichert, auf der folgenden Gelatine- oder Agarplatte die Diagnose leichter machen. Bis heute aber galt der Satz, dafs das Bact. coli alle Einflüsse leichter oder doch wenigstens ebensogut überwindet, wie das Bact. typhi und dadurch war eine Anreicherung ein Ding der Unmöglichkeit.

Im Laufe von Untersuchungen, die ich auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner über den Einflufs der Alkaloide auf Bakterien anstellte, machte ich die eigentümliche Entdeckung, dafs auf gewöhnlichen neutralen Agarplatten, die ich mit 70—80% einer 1proz. Trimethylxanthinlösung versetzt hatte, und die nachher u. a. auch mit Bact. typhi und coli beimpft wurden, das letztere vollständig gehemmt wurde, während das Bact. typhi anscheinend ungehemmt zur Entwicklung gekommen war. Weitere Untersuchungen mit anderen Stämmen ergaben ähnliche Resultate, wenn auch die Grenzen, bis zu welcher Koli und Typhus noch wachsen, oft um weniges variierten.

Die folgende Tabelle zeigt am besten das Resultat dieser Versuche. Zu diesem Zwecke wurde zu 5 ccm flüssig gemachten Agars die sterile Koffeinlösung hinzugegeben und die Röhrchen mit je einer Öse einer 24 Stunden alten Typhus- und Kolibouillonkultur geimpft. Zum Vergleiche wurden auch unversetzte Kontrollplatten angelegt.

Von einer 1proz. Koffeinlösung wurden zugesetzt:

Bakt.	40%	50%	60%	70%	80%	100%	K
typhi	++	++	++	++	+	—	++
Koli	++	+	—	—	—	—	++

++ = vollständig ungehemmtes Wachstum,
+ = vermindertes Wachstum,
± = einzelne Kolonien,
— = vollständig gehemmtes Wachstum,
K = Kontrollversuch.

Nach 24 Stunden.

Stamm	40 %	50 %	55 %	60 %	70 %	80 %	90 %	K
Tph. Kolle . .	++	++	++	++	++	++	+	++
Koli A. . . .	+	—	—	—	—	—	—	++
Koli Aue . .	++	+	+	±	—	—	—	++

Nach 5 Tagen.

Stamm	40 %	50 %	55 %	60 %	70 %	80 %	90 %	K
Tph. Kolle . .	++	++	++	++	++	++	++	++
Koli A. . . .	+	±	—	—	—	—	—	++
Koli Aue . .	++	++	+	±	—	—	—	++

Nach 24 Stunden.

Stamm	40 %	50 %	55 %	60 %	70 %	80 %	90 %	K
Tph. Halle . .	++	++	++	++	++	+	±	++
Tph. Leipzig II	++	++	++	++	++	++	+	++
Koli ähnl. aus Wasser . .	—	—	—	—	—	—	—	++

Das Trimethylxanthin (Koffein) stellte sich also als ein Mittel heraus, das die Eigenschaft zeigt, in gewissen Mengen dem Nährboden zugesetzt, das Wachstum des Bact. coli zu hemmen und auf dasjenige des Bact. typhi gar keinen oder nur geringen Einfluſs zu üben.

Seine Anwendung mit Agar stieſs aber auf ein Hindernis; da auſser dem Bact. coli im Stuhl, Wasser usw. noch eine ganze Reihe anderer Keime vorkommen, die absolut nicht alle in ihrem Wachstume gehindert werden, so würde es wieder mit Schwierigkeiten verknüpft sein, aus der Zahl der auf Agar so wenig different wachsenden Kolonien diejenigen des Bact. typhi herauszufinden. Es war ja zwar die Aussicht vorhanden, durch andere schädigende Stoffe, wie sie frühere Untersucher zu diesem Zwecke angewendet haben, viele dieser Begleitbakterien zu eliminieren,

aber solange die Möglichkeit vorlag, durch die Wahl eines andern Nährbodens dieses Hindernis auf einfacherem Wege beseitigen zu können, lag kein zwingender Grund vor, dieses Verfahren einzuschlagen, um so mehr als es nicht unmöglich wäre, dafs durch den Zusatz eines zweiten schädigenden Stoffes auch das Bact. typhi geschädigt würde.

Am geeignetsten erschien die Fleischwassergelatine zu diesem Zwecke, da ja auf diesem Nährboden, wie auf keinem andern, die Kolonien ein typisches, sie leicht kenntlich machendes Wachstum zeigen. Ich benutzte zu diesen Versuchen auf den Rat Fickers eine 5proz. Gelatine, deren Schmelzpunkt etwas über 28° liegt. Die sonstigen Versuchsanordnungen waren die gleichen wie bei den Agarplatten, trotzdem stimmten die Resultate in keiner Weise mit den früher bei jenen erhaltenen überein. Es stellte sich nämlich heraus, dafs sich die Grenze, bis zu welcher das Bact. coli noch wächst, nach oben verschoben hatte, während Zusätze, die beim Agar keinen Einflufs auf das Bact. typhi ausübten, hier entwicklungshemmend wirkten. Das gleiche Resultat ergab sich mit allen geprüften Stämmen, so dafs ein Versuchsfehler ausgeschlossen war.

Gelatineröhrchen von je 5 ccm Inhalt wurden mit 60, 65 und 70% der Koffeinlösung versetzt und mit je einer Öse einer 24 Stunden alten Typhus- und Kolibouillonkultur beimpft und Platten gegossen; daneben wurden zum Vergleiche auch unversetzte Platten angelegt.

Originalplatten.

	Typhus Berlin nach 24 Std	Koli Berlin nach 24 Std.
Kontrollplatten	Dichtbesäte, normale Typhusgelatineplatte.	Dicht besät mit normalen charakt. Kolikolonien.
Gelatine mit 60 % C.	Die Zahl der hier lang ausgefaserten Kolonien ist unvermindert.	Die Kolonien sind entweder ausgefasert, oder von einem polymorph. Kern gehen zöpfchenartige Fortsätze aus. Geringe Hemmung.

	Typhus Berlin nach 24 Std.	Koli Berlin nach 24 Std.
Gelatine mit 65 %, C.	Die Kolonienform ist gleich wie bei 60 %, nur die Zahl ist hier geringer.	Gleiches Bild, aber fortgeschrittene Hemmung.
Gelatine mit 70 %, C.	Es zeigen sich wenige ausgefaserte Kolonien, aber daneben erscheint eine grofse Zahl kleiner farbloser und ovaler Kolonien.	Wie bei 65 %.

α-Platten.

	Typhus Berlin nach 24 Std.	Koli Berlin nach 24 Std.
Kontrollplatten	Normales Plattenbild.	Normales Plattenbild.
Gelatine mit 60 %, C.	Dürftig besät mit ausgefaserten Kolonien.	Die Zahl der hier ausgefaserten Kolonien ist unvermindert.
Gelatine mit 65 %, C.	Vollständige Wachstumshemmung.	Dürftig bewachsen mit ausgefaserten Kolonien.
Gelatine mit 70 %, C.	Ebenso.	Vollständige Wachstumshemmung.

Die Bildung der Ausläufer ist ein Produkt der nieder prozentuierten und dazu noch stark verdünnten Gelatine und der Eigenschaft der Typhusbazillen, selbst in gewöhnlichen Nährböden, oft in langen Scheinfäden zu wachsen. Durch Zusatz von schädigenden Stoffen und zu diesen mufs das Koffein gerechnet werden, wird die Bildung der Ausläufer noch begünstigt, dieses zeigt sich klar daraus, dafs mit Wasser gleich verdünnte Gelatine dieses Bild in weit geringerem Mafse zeigte (Krause, Bischoff und Menzer).

Jedenfalls waren die Versuche mit Gelatine gänzlich fehlgeschlagen. Es blieb allerdings noch die Frage offen, ob vielleicht eine Reaktionsänderung bessere Resultate liefern würde, denn es war ja selbstverständlich, dafs für den Typhus die günstigsten Bedingungen geschaffen werden mufsten.

Um das Reaktionsoptimum zu erhalten, wurde die Gelatine von stark alkalischer bis stark saurer Reaktion abgestuft und als Aus-

gangspunkt diente die bis zum Phenolphthaleinrotpunkt alkalisierte Gelatine. Zu diesem Zwecke wurden acht Kölbchen mit einer gleichen Menge noch unversetzter, in Fleischwasser gelöster Gelatine gefüllt.

Kölbchen I blieb sauer und erhielt keinen Zusatz.
» II brauchte bis zum Phenolphthaleinrotpunkt . . . . p ccm $^1/_5$ NaOH
» III erhielt einen Zusatz von . . . $\frac{p}{2}$ ccm $^1/_5$ NaOH
» IV » » » » . . . $\frac{p}{3}$ ccm $^1/_5$ NaOH
» V » » » » . . . $\frac{p}{8}$ ccm $^1/_5$ NaOH
» VI » » » » . $\frac{p + \frac{p}{2}}{2}$ ccm $^1/_5$ NaOH
» VII » » » » . $\frac{p + \frac{p}{2}}{4}$ ccm $^1/_5$ NaOH
» VIII » » » » . $\frac{p + \frac{p}{2}}{8}$ ccm $^1/_5$ NaOH.

Die so abgestufte Gelatine wurde in Röhrchen zu je 5 ccm eingefüllt und mit fünf und zehn Tropfen einer Aufschwemmung einer Öse einer 24 Stunden alten Typhusbouillonkultur in 20 ccm steriler Bouillon beimpft. Die daraus gegossenen Platten ergaben bei der Zählung folgendes Resultat:

	10 Tropfen	5 Tropfen
I	18 030	7 072
II	14 532	4 147
III	15 680	8 449
IV	23 682	10 187
V	17 222	9 034
VI	19 683	8 803
VII	19 184	9 149
VIII	27 181	14 109

Durch diese Zahlen ergibt sich ganz deutlich die Bevorzugung eines sauren Nährbodens durch die Typhusbazillen. Dieser

Reaktionsgrad (VIII), den man erreicht, wenn man ungefähr den fünften Teil derjenigen Menge $^1/_5$ Na OH zusetzt, die man brauchte, um die Gelatine bis zum Phenolphthaleinrotpunkt zu neutralisieren, wurde nun bei den folgenden Versuchen mit Koffeinzusatz innegehalten. Nichtsdestoweniger ergaben sich keine besseren Resultate, selbst dann nicht, als alle acht Stufen durchgeprüft wurden, um sicher zu gehen, dafs die Mifserfolge nicht an der Reaktion lagen.

Was konnte nun der Grund sein, dafs die Gelatine so absolut ungeeignete Resultate lieferte, während Agar bei gleicher Versuchsanordnung so günstige Erfolge zeitigte? Es gab allerdings einen Faktor, der eine solche Verschiedenheit herbeiführen konnte und das war die Temperatur; während man die Agarplatten bei 37°, dem Temperaturoptimum für das Bact. typhi, halten konnte, war es unmöglich, bei den Gelatineplatten über 27° herauszugehen.

Um diese Klippe zu umgehen, blieb eigentlich von den gewöhnlichen Nährböden nur noch die Fleischwasserbouillon übrig. Hier war es aber nicht von vornherein anzunehmen, dafs in diesem, den Bakterien die denkbar günstigsten Bedingungen bietenden Substrate sich die im Grunde genommen nicht allzugrofsen Wachstumsunterschiede bei Koffeinzusatz nicht verwischten. Um so mehr mufste man Bedacht nehmen, der Bouillon alle die Eigenschaften zu geben, die dem Bact. typhi zu seinem vollkommen ungehinderten Wachstum unbedingt nötig sind. Natürlich war es vor allem die Reaktion, die einer genauen Prüfung unterzogen werden mufste, dann war es notwendig, auch die Gelatine, die zur nachfolgenden Plattenaussaat benutzt wurde, den veränderten, durch den Koffeinzusatz bewirkten Lebensbedingungen anzupassen. Die auf diese Weise durchgeführten Versuchsreihen ergaben, dafs in solcher Bouillon bei 37° gehaltene Typhuskeime in ihren Lebensfunktionen nicht gestört werden, dafs sie also die schädigenden Einflüsse des Koffeins überwinden und demselben einen gröfseren Widerstand entgegensetzen können, als dieses das Bact. coli vermag,

das dadurch meist gänzlich in seinen Funktionen gehemmt wird.

Bei der Herstellung der Nährböden wurde genau nach den Angaben Fickers verfahren. Als Ausgangspunkt diente eine Fleischwasserstammlösung, deren Zubereitung zuerst von Weise[1]) veröffentlicht wurde. 1000 g Rindfleisch werden in der Hackmaschine zerkleinert und in einem Emailletopf mit 2 l destillierten Wassers versetzt und kräftig umgerührt. Das Gewicht von Topf samt Inhalt wird festgestellt und letzterer auf der Flamme unter fortwährendem Umrühren zum Kochen gebracht. Nach $^3/_4$ stündigem Kochen wird der Gewichtsverlust durch Wasserzugabe ersetzt und das Ganze durch ein Koliertuch geprefst und die gemessene Kolatur mit 1 proz. Pepton und 0,5 proz. Kochsalz versetzt, darauf zur Lösung zum Sieden gebracht. Nach dem vollständigen Abkühlen, am besten im kalten Wasserbade, wird das Fleischwasser filtriert und in Bier- oder Milchflaschen mit Patentverschlufs gefüllt und ohne zu schliefsen in den Dampf gestellt, nachdem man vorher noch eine doppelte Fliefspapierkappe über den geöffneten Verschlufs gestülpt hat. Nach 2stündiger Sterilisation wird der Verschlufs, ohne die Papierkappe zu lüften, durch das Herunterdrücken des Hebels geschlossen und die Kappe mit einem Bindfaden festgebunden. Diese Vorratlösung ist dauernd haltbar.

Bei der Herstellung der verschiedenen Reaktionsstufen wurde genau in der gleichen Weise wie bei der Gelatine verfahren, nur mit dem Unterschiede, dafs zur Alkalisierung nicht $^1/_5$ Normal-Natronlauge, sondern Normal-Sodalösung angewendet wurde, da man mit ihr bessere Resultate erzielte. Von den sechs mit gleichen Mengen Fleischwasser gefüllten Kölbchen erhielt:

Kölbchen I keinen Zusatz,

» II brauchte bis zum Phenolphthaleinrotpunkt . . . p ccm Na_2CO_3

» III erhielt einen Zusatz von . $\frac{p}{2}$ ccm Na_2CO_3

1) W. Weise, Chemische und bakt. Beschaffenheit der öffentlichen Brunnen und Wasserleitungen von Plauen. Inaug.-Dissert., 1895.

Kölbchen IV erhielt einen Zusatz von . $\frac{p}{4}$ ccm Na_2CO_3

» V » » » » . $\frac{p+\frac{p}{2}}{2}$ ccm Na_2CO_3

» VI » » » » . $\frac{p+\frac{p}{2}}{4}$ ccm Na_2CO_3.

Die auf diese Weise mit Normal-Sodalösung abgestuften Fleischwasserkölbchen wurden zur Abscheidung der Salze eine Viertelstunde dem strömenden Dampfe ausgesetzt, dann filtriert und die fertige Bouillon eine halbe Stunde sterilisiert.

Schon ein Vorversuch mit diesen sechs Reaktionsgraden der Bouillon zeigte, dafs mit den Reaktionen IV und VI vorwiegend günstige Resultate zu erzielen waren und der nachstehende Versuch bestätigte es, zeigte aber auch deutlich durch die Plattenaussaat auf verschieden alkalisierte Gelatine, dafs der jeweilige Reaktionsgrad dieser letzteren einen ziemlichen Einflufs auf das Ergebnis ausübte.

Die Versuchsanordnung war folgende: Zu je 20 ccm der Bouillon IV und VI, die mit 70% der 1 proz. Koffeinlösung versetzt waren, wurden drei Tropfen einer Aufschwemmung zugesetzt, die hergestellt war aus je einer Öse einer 24 Stunden alten Typhus- und Colibouillonkultur in 20 ccm steriler Bouillon. Nach 24 Stunden wurden mit je einem Tropfen dieser bei 37° gehaltenen Vorkultur Platten gegossen und zwar mit Gelatine verschiedener Reaktion. Um die Anwendung der Tropfen zu motivieren, möchte ich erwähnen, dafs diese Versuche in Tropfgläsern vorgenommen wurden, was die Arbeit sehr erleichterte.

Gelatine a.

Bouillon IV	Bact. typhi	Dicht bewachsen; die tiefliegenden Kolonien sind ein wenig formverändert, während die oberflächlichen typische Häutchen bilden.
	Bact. coli	Ganz dürftig besät.
Bouillon VI	Bact. typhi	Dicht besät mit normalen Typhuskolonien.
	Bact. coli	Vollständige Hemmung.

Gelatine b.

Bouillon IV	Bact. typhi	Kein Wachstum.
	Bact. coli	Spärlich besät mit kleinen Kolonien.
Bouillon VI	Bact. typhi	Kein Wachstum.
	Bact. coli	Kein Wachstum.

Gelatine c.

Bouillon IV	Bact. typhi	Dicht besät; normales Kolonienbild.
	Bact. coli	Bewachsen mit ziemlich zahlreichen, normalen Kolikolonien.
Bouillon VI	Bact. typhi	Dicht bewachsen mit normalen Kolonien.
	Bact. coli	Vollständige Hemmung.

Nach 3 Tagen zeigten sich die gewonnenen Resultate insofern verändert, als das Bact. typhi auf Gelatine b noch vollständig ausgewachsen war.

Die Reihe ergibt, abgesehen davon, dafs der Koffeinzusatz ein wenig zu niedrig gegriffen war, den Vorteil der Reaktion VI und wenn in Zukunft von Bouillon die Rede ist, so ist immer diese gemeint. Deutlich tritt auch die je nach Reaktion günstige oder ungünstige Beeinflussung des Resultats durch die Gelatine zutage.

Es war daher die nächste Aufgabe, das Optimum der Reaktion auch der Gelatine für diese Verhältnisse zu bestimmen. Einer Quantität des Fleischwassers wurde 5% Gelatine zugefügt und diese im Wasserbade nicht über 50° gelöst. Die auf diese Weise flüssig gemachte Gelatine wurde zu gleichen Mengen in acht Kölbchen gefüllt und diese nach der auf Seite 218 angegebenen Methode mit den abgestuften Zusätzen von $^1/_5$ Normal-NaOH versehen, darauf zur Abscheidung der Salze 3—5 Minuten in kochendem Wasser gehalten, dann die klare Gelatine abfiltriert und in Röhrchen gefüllt, die 15 Minuten in strömendem Dampfe sterilisiert wurden. Eine eventuell nach der Sterilisation auftretende Trübung der Gelatine verschwindet nach einiger Zeit

von selbst. Die auf diese Weise zubereitete Gelatine hält eine Temperatur bis zu 28° aus.

Bei der Bestimmung des Reaktionsoptimums wurde nicht nur auf die Zahl der gewachsenen Typhuskolonien, sondern auch hauptsächlich auf ein ungehindertes, charakteristisches Wachstum, besonders der Oberflächenkolonien, Rücksicht genommen. Die auf diese Weise durch verschiedene Versuchsreihen erhaltene Reaktion (VI) stimmt nicht ganz mit den früher für normale Verhältnisse erhaltenen überein, was wohl der vorangegangenen Einwirkung des Koffeins zuzuschreiben ist.

Typhusgelatineplatten aus einer 70 proz. Koffeinbouillon nach 24 Stunden.

Gelatine	
I	Nicht allzu dicht besät; normales Kolonienbild.
II	Zahl der Kolonien wie I; die tiefliegenden Kolonien zeigen bald eine normale Gestalt, bald zeigen sie polymorphe, knäuelige Zentren mit kurzen Ausläufern.
III	Sehr dicht besät mit grofsen, runden, gelblichen Kolonien und charakteristischen Oberflächenkolonien.
IV	Wie III, nur sind die Kolonien im ganzen klein und kümmerlich.
V	Ebenso, nur ist die Zahl der Kolonien geringer.
VI	Die tiefliegenden Kolonien sind grofs, scharf umrandet, von leicht gelblicher Farbe; einige zeigen Neigung zur Fadenbildung. Die Oberflächenkolonien sind normal.
VII	Die Platte ist mit normalen Kolonien nicht allzu reichlich bewachsen.
VIII	Ebenso.

Koli-Gelatineplatten aus einer 70 proz. Koffeinbouillon nach 24 Stunden.

Gelatine	
I	Kein Wachstum
II	» »
III	» »
IV	» »
V	» »
VI	» »
VII	» »
VIII	» »

Auf diese Weise wurden alle im Institut vorhandenen Typhus- und Colistämme geprüft. Darunter befanden sich fünf aus Gelsenkirchen bezogene, aus Stuhl frisch gezüchtete Typhus- und ebenso

auch frisch isolierte Colistämme. Eine Öse einer 24 Stunden alten Bouillonkultur wurde in bekannter Weise in 20 ccm indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit[1]) oder Bouillon aufgeschwemmt und davon drei Tropfen der 70—90 proz. Koffeinbouillon zugesetzt. Die Röhrchen wurden bei 37° gehalten und nach 24 Stunden zeigten die mit Typhus beimpften bereits eine Trübung, während die Coliröhrchen klar blieben. Dieses Resultat wurde auch durch die nachfolgende Plattenaussaat bestätigt.

Etwas anders gestaltete sich die Sache, als der Koffeinbouillon direkt gröfsere Mengen, etwa eine grofse Öse der zwei Bouillonkulturen zugesetzt wurden. Hier zeigte das Bact. coli bei einem Koffeinzusatz von 70—90% ebenfalls Wachstum und selbst bei noch höheren Konzentrationen wurde in zwei Fällen wohl das Wachstum, nicht aber die Lebensfähigkeit gehemmt. Es stellte sich also die Notwendigkeit heraus, den Coffeïnzusatz zu erhöhen und, wie folgende Zusammenstellung beweist, konnte sogar bei 115% noch ein Wachstum der Typhusbazillen konstatiert werden, wenn auch nicht in dem Grade wie bei niedrigeren Konzentrationen.

In Bouillon, die mit 115% einer 1proz. Koffeinlösung versetzt war, wurde je eine Öse von 24 Stunden alten Bouillonkulturen diverser Typhus- und Colistämme und einiger typhusähnlich wachsender Wasserbakterien geimpft und 18 Stunden bei 37° gehalten und darauf mit je einer Öse Gelatineplatten gegossen, die einer Temperatur von 26° ausgesetzt wurden. Es ergaben sich folgende Resultate:

Stamm	Koffeinbouillon nach 18 Std.	Daraus angelegte Gelatineplatten
Bact. coli I	Klar	3 kleine Kolonien
Bact. coli II	»	Kein Wachstum
Bact. coli III	»	»
Bact. coli Aue	»	1 Kolonie
Bact. coli Berlin	»	Kein Wachstum
Bact. coli A.	»	»

1) Nach M. Ficker, Über Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt., 1899.

Stamm	Koffeinbouillon nach 18 Std.	Daraus angelegte Gelatineplatten
typhusähnl. Wasserbakt. I	Klar	Kein Wachstum
» » II	»	»
» » III	»	»
» » IV	»	»
Bact. typh. Berlin	getrübt	Wachstum
Bact. typhi Richter	»	»
Typhus Leipzig	»	»
Typhus Kolle	»	»
Typhus Halle	»	»
Typhus Muschold	»	»
Typhus Pinchammer	»	»
Typhus Grande	»	»
Typhus Kaiser II.	»	»
Typhus Levy	»	»

Da jedoch in praktischen Fällen, wie bei Stuhl- und Wasseruntersuchungen nie mit solchen Verhältnissen zu rechnen ist, so hat eine solche Steigerung des Koffeinzusatzes keinen Zweck. Selbst wenn durch diese Unterlassung die Möglichkeit geschaffen wird, dafs durch die niedrigeren Zusätze nicht alle Colibazillen in ihrer Lebensfähigkeit gehemmt werden, so werden sie von dem günstigere Bedingungen findenden Bact. typhi überwuchert, so dafs sie nicht in Betracht kommen.

Durch diese Tatsache ist aber nun die Bedingung erfüllt, die zur Anwendung einer Anreicherung vor allem nötig ist, um so mehr als noch eine Reihe anderer Bakterien ausgeschaltet wird; so z. B. wurde durch die Verimpfung einer normalen Stuhlaufschwemmung auf der folgenden Gelatineplatte nur eine einzige Kokkenart aufgefunden, die ganze übrige Stuhlflora wurde im Wachstume vollständig gehemmt. Hierbei soll aber ausdrücklich betont werden, dafs diese Untersuchungen keineswegs einen Anspruch auf eine Methode machen, im Gegenteil, es soll nur ein Weg angegeben werden, auf dem man eventuell zum Ziele kommen könnte.

In ein paar einzelnen Fällen ergaben sich auch in dieser Beziehung schon ganz gute Resultate; so hatte Herr Stabsarzt

Dr. Hoffmann die Liebenswürdigkeit, bei Urinuntersuchungen die Koffeinanreicherung anzuwenden und konnte er auch mit ihrer Hilfe und der nachfolgenden Aussaat auf dem Drigalski-Conradischen Nährboden zwei Stämme von Paratyphus — Typhus B — isolieren, ein Beweis, dafs auch diese, doch sonst so abnormen Typhuskeime sich in dieser Beziehung dem Bact. typhi analog verhalten. Ferner wurde auch eine Milz eines am Typhus gestorbenen Menschen untersucht und zwar gleichzeitig mit Hilfe des Drigalskischen Lackmuslaktoseagars und der Koffeinanreicherung. Bei der Vergleichung der beiden Platten, der Drigalskischen und der der Koffeinvorkultur nachfolgenden Gelatineplatte ergab sich deutlich eine etwa fünfmal so grofse Menge Kolonien auf der letzteren. Ebenso gelang es mir, aus dem Stuhl eines Typhuskranken ganz leicht, das Bact. typhi zu isolieren.

Im Laufe dieser Arbeit wurde auch versucht, das Koffein direkt der Bouillon zuzusetzen und die Versuche ergaben auch einen positiven Ausschlag, aber trotzdem erschien es, als ob doch die Erfolge mit der 1 proz. Lösung die besseren wären; höhere Konzentrationsgrade lassen sich der Lösungsverhältnisse des Trimethylxanthins wegen nicht erreichen. —

Die bis jetzt ausgeführte Untersuchungsmethode sei im folgenden kurz zusammengefafst:

I. Herstellung der Vorkultur: Eine Quantität Fleischwasservorratlösung (vgl. Seite 220) wird mit dem 2,6 Teil der Menge Normalsodalösung versetzt, die man brauchen würde, um das Fleischwasser bis zum Phenolphthaleinrotpunkt zu neutralisieren. Die Feststellung dieser Menge geschieht am einfachsten dadurch, dafs man etwa 10 ccm des Fleischwassers mit einigen Tropfen Phenolphthalein versetzt, bis eine bleibende Rotfärbung eintritt. Angenommen, man hätte dazu 0,9 ccm Sodalösung gebraucht, so würde man, um z. B. 300 ccm Fleischwasser bis zum Phenolphthaleinpunkt zu neutralisieren 30 mal 0,9 ccm, also 27 ccm dazu brauchen, für unsere Zwecke darum 27 durch 2,6, was also 10,38 ccm betragen würde. Weiter wird das Fleischwasser nach der auf Seite 221 angegebenen Methode ver-

arbeitet und die fertige Bouillon in abgemessenen Mengen in Röhrchen gefüllt und sterilisiert. Eine entstandene Trübung verschwindet beim Erkalten.

Vor dem Gebrauch setzt man 80—100% einer 1 proz. Koffeinlösung zu und schüttelt gut durch. Arbeitet man mit Reinkulturen, so benutzt man am besten eine Öse einer 24 Stunden alten Bouillonkultur. Die geimpften Röhrchen hält man 15 bis 20 Stunden bei 37° und giefst dann davon Gelatineplatten. Zur Bereitung der Koffeinlösung benutzt man das reine Koffein des Handels, das man mit der entsprechenden Menge kochenden destillierten Wassers versetzt.

Die Herstellung der Gelatine geschieht in der bekannten Weise, dafs man einer Quantität Fleischwasser 5% Gelatine zusetzt und diese im Warmwasserbade nicht über 50° löst. Darauf setzt man den 1,3. Teil der Menge $^1/_5$·Normal-Natronlauge zu, die man bedürfte, um die gesamte Menge Gelatine auf den Phenolphthaleïnrotpunkt zu bringen. Dabei verfährt man in gleicher Weise, wie schon bei der Bouillon angegeben wurde, und im übrigen nach dem auf Seite 222 angegebenen Verfahren. Die Natronlauge wurde hier, im Gegensatze zur Bouillon, wo eine Normalsodalösung angewendet wird, deshalb als vorteilhafter beibehalten, da sie eine bessere Ausfällung der Salze bewirkt, die hier insofern schlechter vor sich geht, als die Gelatine, um diesen hohen Schmelzpunkt zu erzielen, so wenig als möglich der Siedehitze ausgesetzt werden darf.

Von den nach 20—24 Stunden ausgewachsenen Kolonien zeigen nur die tiefliegenden eine Abweichung von dem Wachstume auf der gewöhnlichen Gelatineplatte. Die Oberflächenkolonien, die sich allein wie auch unter normalen Verhältnissen zur Diagnose verwerten lassen, erscheinen als durchsichtige, weifse, irisierende Häutchen von weinblattähnlicher Form, die oft von feinen, an Blattnerven erinnernden Furchen durchzogen werden. Es ist daher sehr wünschenswert, auch hier durch irgendeine Methode, ähnlich dem Drigalskischen Oberflächenausstrich, nur oberflächliche Kolonien zu erzielen. Die tiefliegenden Kolonien dagegen erscheinen bald in normaler, runder

scharf begrenzter Gestalt, bald zeigen sie Neigung auszufasern, indem von einem polymorphen, gelblichen bis dunkeln Zentrum oft kurze Borsten oder dünne Ausläufer ausgehen. In vielen Fällen erscheinen die Kolonien auch in typischer, geldrollenförmiger Anordnung. Verursacht werden diese Wachstumseigentümlichkeiten durch das Koffein der Vorkultur, in der, wie man sich durch einen hängenden Tropfen überzeugen kann, das Bact. typhi zu langen Scheinfäden auswächst, die besonders bei höheren Konzentrationen ihre Beweglichkeit verlieren. Naturgemäfs müssen auch diese Verbände auf der Gelatineplatte ein anderes Kolonienbild hervorrufen, als es unter gewöhnlichen Umständen der Fall ist.

Die Resultate der Arbeit lassen sich in die zwei folgenden Sätze kurz zusammenfassen:

1. Es gelingt durch Zusatz von gewissen Mengen Koffein zu bestimmten Nährböden, die Entwicklung, ja sogar die Lebensfähigkeit des Bact. coli vollständig zu hemmen, während das Bact. typhi gar nicht oder nur gering beeinflufst wird.
2. Auf Grund dieser Tatsache ist die Anwendung einer Vorkultur, d. h. einer Anreicherung möglich gemacht.

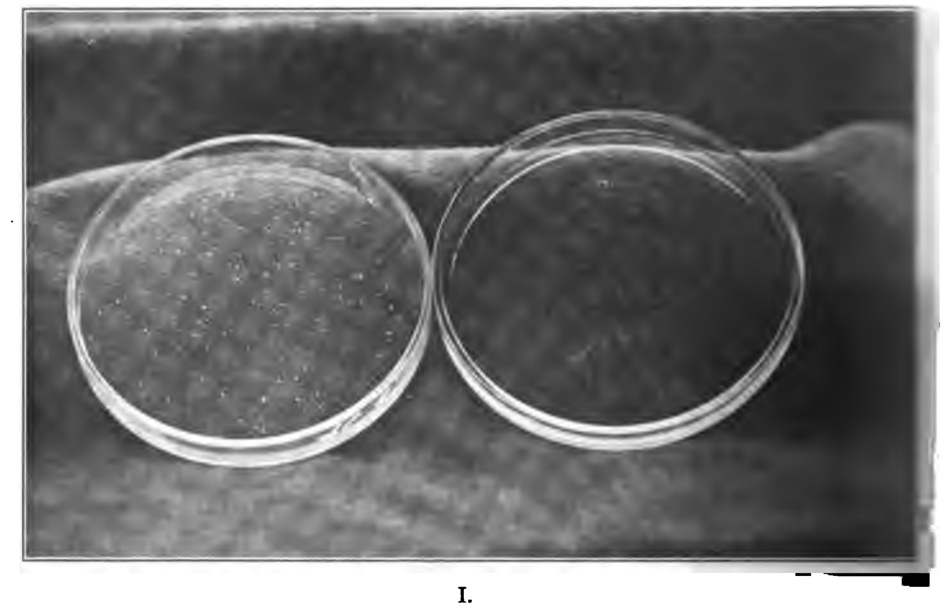
Zum Schlusse erlaube ich mir, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Rubner für seine Anregung und das grofse Interesse, das er dieser Arbeit entgegenbrachte, sowie auch Herrn Privatdozenten Prof. Dr. M. Ficker für seine Unterstützung mit Rat und Tat meinen besten Dank auszusprechen.

Tafelerklärung.

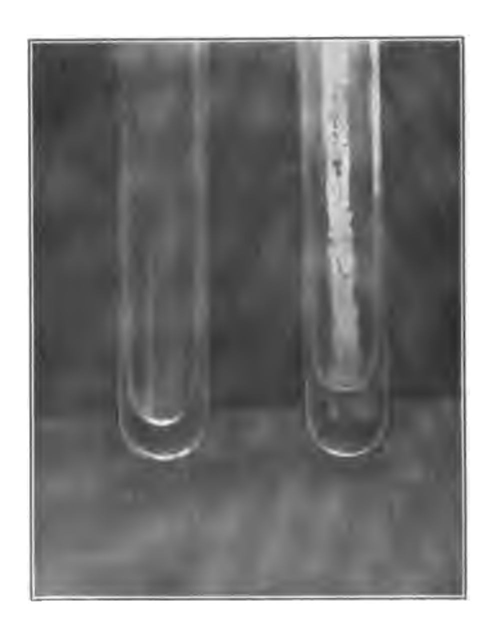
I. Gelatineplatten, beimpft mit Bact. typhi und coli aus einer 15 Stunden bei 37° gehaltenen Vorkultur, nach 24 Stunden.

II. Agarausstriche nach 24 Stunden aus den gleichen Vorkulturen.

III. Zwei 24 Stunden bei 37° gehaltene, gewöhnliche neutrale Agarplatten, die mit 70% einer 1 proz. sterilen Koffeinlösung versetzt und mit Bact. typhi und coli beimpft waren.



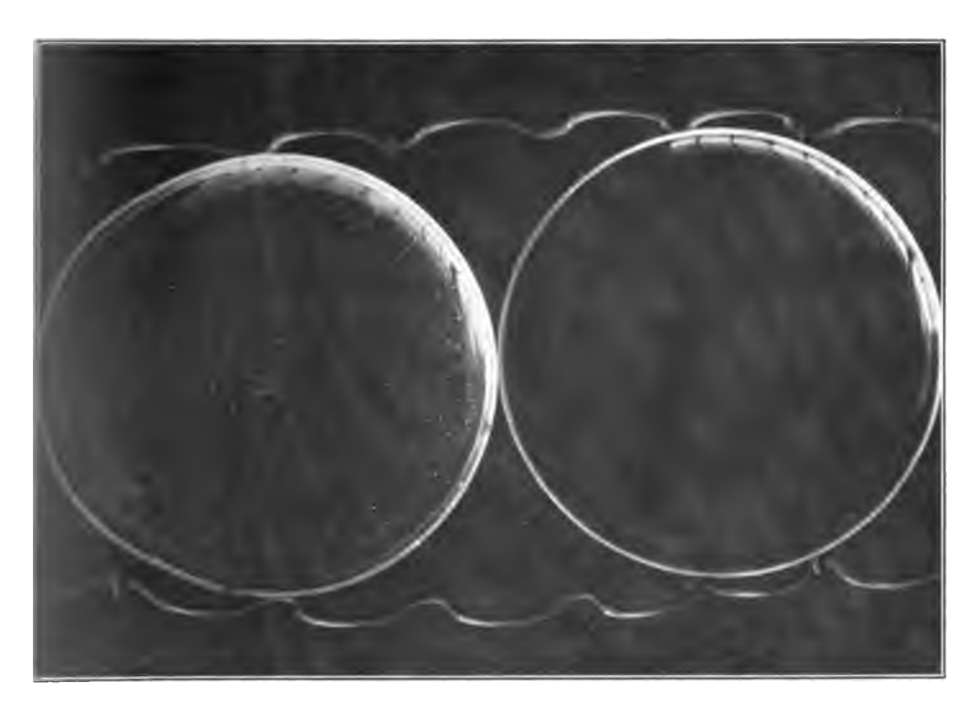
I.



II.

Druck und Verlag von R. Oldenbourg in München.

Tafel I.



III.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Rubner.)

Weiteres über den Nachweis von Typhusbazillen.[1])

Von

Privatdoz. Prof. Dr. **M. Ficker** und Stabsarzt Dr. **W. Hoffmann**,
Assistenten am Institut.

A. Einleitung.

Wohl keine Frage in der Bakteriologie ist eines eifrigeren Studiums für wert gehalten worden wie die des Nachweises des Typhuserregers und die damit zusammenhängende Frage der Unterscheidung der Typhusbazillen von den ihm nahestehenden Bakterienarten.

So mannigfache Differenzen in den Eigenschaften des Eberthschen Bazillus im Vergleich zu der Gruppe seines schärfsten Konkurrenten, des Bacterium coli, man auch suchte und fand, wie grofs auch die Zahl der zum kulturellen Nachweis herangezogenen Substanzen war und wie günstig auch sonst die zahlreichen Nährböden zum Nachweis von Typhusbazillen waren: immer ergab sich am Schlufs das eintönige Fazit, dafs auf den neuen Nährböden B. coli in der Regel intensivere, in manchen Fällen gleich gute Entwicklung fand.

Da war es denn förmlich ein Ereignis, als Roth (Hyg. Rundschau 15. Mai 1903), der in unserem Institute auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner den Einflufs von Alkaloiden auf

---

1) Im Anschlufs an unsere Veröffentlichung in Nr. 1 der Hygienischen Rundschau, 1904: »Über neue Methoden des Nachweises von Typhusbazillen«.

Bakterien prüfte, in dem Koffein (Trimethylxanthin) ein Mittel fand, das die Wachstumskurve der beiden Bakterienarten zwang, sich zu kreuzen, das, zu Nährböden zugesetzt, Bact. coli in der Entwicklung zurückhielt, ja sogar, wie ein Desinfektionsmittel, vernichtete, während die Typhusbazillen in dem gleichen Substrat zur Entwicklung gelangten.

Mit dieser Tatsache, die damals ein vollständiges Novum darstellte, war zwar ungeheuer viel gewonnen, aber es erwies sich bald, dafs bis zur Fertigstellung einer Methode, die praktischen Zwecken dienen sollte, noch ein weiter Schritt war, vor allem deshalb, weil das Koffein, wie zahlreiche Untersuchungen zeigten, nicht der Koligruppe angehörende Bakterien doch nicht in dem wünschenswerten Mafse zurückhielt.

Da nun nach der Art der auf Typhusbazillen zu untersuchenden Medien diese den Typhusbazillus begleitenden Keime ganz verschiedener Naturwaren, so hielten wir es für das Vorteilhafteste, als Roth aus äufseren Gründen an dem weiteren Ausbau der Methode verhindert war, eine Arbeitsteilung vorzunehmen und zwar derart, dafs der Eine von uns (H.) durch Vorversuche das Kristallviolett, das sich bei dem Drigalski-Conradischen Nährboden als entwicklungshemmend für die Begleitbakterien erwiesen hatte, als Zusatz zu der Rothschen Koffeinbouillon prüfte, und später die Methode zur Wasseruntersuchung ausarbeitete, während der Andere (F.) sich der Methode zur Untersuchung von Typhusstühlen zuwandte.

B. Vorversuche.

Es mufste also zunächst festgestellt werden, bis zu welcher Konzentration einer 0,5 proz. Koffeinbouillon (nach Roth) zur Zurückhaltung saprophytischer Begleitbakterien Kristallviolettlösung zugesetzt werden kann, dafs noch eine Vermehrung der Typhusbazillen und eine einwandsfreie Entwicklungshemmung der Kolibazillen konstatiert werden konnte. Bei allen Versuchen — wenn nicht etwas anderes bemerkt wird — war eine ca. 24 stündige Bouillonkultur der Ausgang, von der mittels einer

sterilen Pipette oder einer Öse ein bestimmtes Qantum in eine oder — behufs einer noch stärkeren Verdünnung — in eine weitere Tropfflasche, mit steriler Bouillon gefüllt, gebracht wurde. Auf diesem Wege gelingt es sehr bald, — nach einigen Erfahrungen — eine ungefähr sich immer gleichbleibende Anzahl von Bakterien in ein beliebiges Medium einzusäen.

Selbstverständlich hat die genauere Bestimmung der eingesäten Bakterienzahl noch dadurch zu erfolgen, dafs man dieselbe Tropfenanzahl in Gelatine oder Agar gibt und nach Ausgufs zur Platte nach 24 bzw. 48 Stunden die ausgewachsenen Kolonien nach den bekannten Regeln mikro- oder makroskopisch auszählt, wobei der gröfseren Exaktheit halber es erforderlich ist, noch eine Kontrollplatte mit derselben Tropfenanzahl zu giefsen. Man erhält auf diese Weise Durchschnittswerte und kann dann — eine gewissenhafte Auszählung der Platten vorausgesetzt — behaupten, dafs die in das betreffende Medium eingesäte Tropfenzahl die durch Keimzählung gefundene Menge von Bakterien enthielt.

Es mufs jedoch noch weiter darauf aufmerksam gemacht werden, dafs jedesmal nach Überimpfung aus der Bouillon in die einzelnen Tropfflaschen und in die verflüssigte Gelatine bzw. Agar ein gründliches Umschütteln der Tropfflasche zu erfolgen hat; um auch hierbei stets gleichmäfsig vorzugehen, hatten wir uns daran gewöhnt, solange umzuschütteln, bis man im ruhigen Tempo bis 20 gezählt hat. Dieser Schematismus ist nicht von der Hand zu weisen, wenn man bei länger dauernden Untersuchungen, die sich in der Hauptsache auf quantitative Keimbestimmung aufbauen, vergleichbare und ungefähr sichere Werte erzielen will.

Zu den Versuchen wurde der Typhusstamm Gelsenkirchen und der Kolistamm Aue unserer Institutssammlung verwendet, später jedoch noch eine gröfsere Anzahl von Typhusstämmen geprüft.

Zunächst kamen als Stammlösungen eine Bouillon, die mit dem 2,6. Teil der Menge einer $\frac{n}{1}$ Sodalösung, welche zum Eintreten des Phenolphthaleinrotpunktes nötig ist, versetzt war, eine 1proz. wässerige Koffeinlösung und eine Lösung von 0,1 g Kristall-

violett-Höchst (von Altmann-Berlin bezogen) in 100,0 ccm Aq. destill. steril. zur Verwendung; die beiden letzten Flüssigkeiten wurden zu jedem Versuche frisch hergestellt.

1. 10 ccm Bouillon
   10 ccm Koffeinlösung
   0,02 ccm Kristallviolettlösung } der Einfachheit halber weiter genannt: Lösung A, B, C.
2. 20 ccm Lösung A.
   0,02 ccm Lösung C.
3. 20 ccm Lösung A.

Resultat:

	Lösung 1	Lösung 2	Lösung 3
Typhuseinsaat (auf 1 ccm berechnet)	26 755	26 755	26 755
	nach 8 Std. 80 361	∾	∾
	nach 24 Std. 21 358 740	∾	∾
Vermehrung	1 : 790	—	—
Kolieinsaat (auf 1 ccm berechnet)	17 409	17 409	17 409
	nach 8 Std. 140	∾	∾
	nach 24 Std. 100	∾	∾
Rückgang	174 : 1	—	—

Aus diesem Versuch ging zunächst hervor, dafs auch bei entsprechendem Kristallviolettzusatz zu der 0,5 proz. Koffeinbouillon eine Vermehrung der Typhusbazillen und eine starke Hemmung der Kolibakterien sich nachweisen liefs. Während die Kölbchen der Lösung 2 und 3 schon nach 8 Stunden eine deutliche Trübung erkennen liefsen, war dies bei der Lösung 1 weder bei dem Koli- noch bei dem Typhuskölbchen der Fall; nach 24 Stunden zeigte letzteres eine geringe hauchartige Trübung.

Da durch den Zusatz der wässerigen Koffeïnlösung die eigentliche Bouillon in ihrer Zusammensetzung alteriert wurde, so war es von Bedeutung, zu wissen, wie sich Typhus- und Kolibakterien verhielten, wenn die Bouillon von vornherein so hergestellt wurde, dafs nach Zusatz der Koffeinlösung zu gleichen Teilen die Zusammensetzung der Bouillon die übliche wurde. Hiernach kam also zur Herstellung der Bouillon die doppelte Menge Fleisch, Pepton und Kochsalz zur Verwendung.

Die Vermehrung der Typhusbazillen war wiederum schon nach 8 Stunden deutlich nachweisbar, während sich bei den Kolibakterien trotz der gegen früher erhöhten Nährstoffmenge eine Entwicklungshemmung ergab.

Es wurde dann in mehreren Versuchsreihen der Zusatz der Kristallviolettlösung erhöht, auf 0,2 %, 0,45 %, 0,5 % und 0,9 %; der Koffeingehalt blieb unverändert.

	0,2 % Kristallviolettlösung		0,45 %	0,5 %	0,9 %
Typhuseinsaat .	6 629	1 597	265	22 802	492
nach 20 Stunden . .	1 986 110	142 806	13 910	891 590	12 000
Vermehrung	1 : 299	1 : 89	1 : 52	1 : 39	1 : 24
Kolieinsaat . . .	78 631	3 925	1 045	2 066	699
nach 20 Stunden . .	7 800	10	13	0	0
Rückgang	10 : 1	392 : 1	80 : 1	—	—

Aus diesen Tabellen geht zunächst hervor, dafs die Höhe der Keimzahl bei der Einsaat von gröfster Bedeutung für den Ausschlag der Koffein-Kristallviolettwirkung ist; je gröfser die Menge der eingesäten Bakterien ist, umso stärker ist naturgemäfs die Vermehrung bei den Typhusbazillen und desto geringer der Rückgang bei dem Bacterium coli.

Wird der Zusatz von Kristallviolettlösung zu der Koffeinbouillon auf viel mehr als 0,9 % erhöht, so besteht die Gefahr, dafs eine gewisse mehr oder weniger grofse Anzahl von Typhusbazillen geschädigt werden und zugrunde gehen kann, worauf wir von vornherein stets Bedacht nehmen mufsten, zumal mit Rücksicht auf die praktischen Untersuchungen auf Typhusbazillen, wobei diese Mikroorganismen durch ihren Aufenthalt in einem ihnen vielleicht wenig zusagenden Medium, wie im Wasser, in ihrer Lebenskraft und Widerstandsfähigkeit an und für sich schon geschwächt sein können.

Aus diesem Grunde glaubten wir zunächst den Zusatz von 0,5 proz. Kristallviolettlösung zu der Koffeinbouillon als den empfehlenswertesten ansehen zu müssen, bei dem eine unzweideutige Vermehrung der Typhusbazillen um das ungefähr 39 fache in

20 Stunden eintritt, während Kolibakterien mit Sicherheit in ihrer Entwicklung gestört, ja ganz nach der eingebrachten Menge stark reduziert bzw. eliminiert werden.

Durch unsere Versuche war hiernach die Beobachtung Roths bestätigt, dafs auch bei Zusatz von Kristallviolett das Trimethylxanthin die Fähigkeit besitzt, unter gewissen Bedingungen die Koligruppe in der Entwicklung zu hemmen, während die Typhusbazillen sich noch in befriedigender Weise vermehren.

Es war deshalb die Möglichkeit vorhanden, dafs andere chemische Körper, deren Hauptkonstituens das Koffein ist, die sogenannten Koffeinderivate, eine ähnliche, vielleicht noch stärkere Wirkung auf Koli- bzw. Typhusbazillen ausübten.

Es wurden uns durch die aufserordentliche Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrats Professor Dr. E. Fischer, Direktors des I. chemischen Instituts der Universität Berlin, eine gröfsere Zahl, zum Teil von ihm selbst dargestellter und wertvoller Koffeinderivate zur Verfügung gestellt. Es wurden geprüft:

1. Theophyllonnatrium (in einer Lösung von 1:100 Zusatz zu Bouillon 10%, 50%, 100%).
2. Tetramethylharnsäure (wie bei 1).
3. Methyluracil (Lösung von 0,7:100,0 im übrigen wie bei 1).
4. 7 Methyl 2—6 Dichlorpurin (Lösung von 0,25:100,0; Zusatz 10%, 100%, 200%).
5. Chlorkoffein (Lösung 1:200 bei Erhitzung; 10%, 50%, 100%).
6. Imidopseudoharnsäure (wie bei 5, nicht völlige Lösung).
7. Adenin (Lösung 1:200 bei wiederholtem Aufkochen; 10%, 50%, 100%).
8. Aethoxykoffein (1:100 beim Kochen gelöst; 10%, 50%, 100%; nachträgliche Ausfällung).
9. Uramil (Lösung erfolgt unvollkommen; auch bei Zusatz von Natronlauge, Essigsäure, Salzsäure).
10. Pseudoharnsäure (Lösung 1:100 nicht vollkommen; 10%, 100%).
11. 2—6 Dichlor 8 oxy 9 methylpurin (Lösung 1:100 geringer Bodensatz; 10%, 100%).
12. Guanin } unvollkommene Lösung.
13. Dichloroxypurin }

14. Methylharnsäure (Lösung 1:100 kalt).
15. Bromkoffein } unvollkommen löslich.
16. Methylaloxan }

Gegen Erwarten zeigte keines der Koffeinderivate eine differente Einwirkung auf Typhus- und Kolibazillen, entweder trat gleichmäfsig gutes Wachstum auf, oder es hatten sich die Kolibakterien noch stärker vermehrt als das Bact. typhi, oder es war bei beiden nur eine kümmerliche bzw. gar keine Entwicklung eingetreten.

So eigenartig dieser Befund ist, so interessant ist es doch auch, dafs gerade einzig das Trimethylxanthin diese entwicklungshemmende Beeinflussung der Koligruppe aufweist.

C. Fäcesuntersuchung.

Wenn auch nach den Untersuchungen von Castellani[1]), Courmont[2]) und insbesondere von Schottmüller[3]) künftighin am Krankenbett in diagnostischer Hinsicht die Prüfung des Blutes auf Typhusbazillen gegenüber derjenigen der Fäces voraussichtlich die gröfsere Bedeutung behalten wird, so wird doch den Hygieniker der Nachweis der Typhusbazillen in den Absonderungen und vor allem in den Dejekten der Typhuskranken oder der Rekonvaleszenten, oder auch der Gesunden, sowie auch die Haltbarkeit der Typhusbazillen in den ausgeschiedenen Dejekten noch lange zu beschäftigen haben. Es wird gerade hier noch sorgfältiger Untersuchungen bedürfen und eine Revision früherer Befunde sich insofern nötig machen, als ja unsere Kenntnisse hierüber zum Teil auf einem recht schwanken Grunde stehen; denn wer will uns bei dem jetzigen Stande der Identifizierung des Typhuserregers sagen, ob es bei früheren und selbst den sorgfältigsten Versuchen und Feststellungen sich nun wirklich immer um den echten Typhusbazillus gehandelt hat? —

1) Castellani A., Upon a special method for the detection of the typh. bac. in the Uood. Centralbl. f. Bakt., XXXI, 10.

2) Courmont, J., Sur la présence du bac. d'Eberth dans le sang des typhiques. Journ. de Phys. et de Path. gén., Nr. 1.

3) Schottmüller, Zur Pathogenese des Typhus abd. Münch. med. Wochenschr., 1902, S. 1561.

Wenn wir in dieser Hinsicht heute besser als früher gestellt sind und durch das Agglutinationsverfahren und die Pfeiffersche Reaktion vor Täuschungen bewahrt zu bleiben hoffen, so sind doch zurzeit noch die zum kulturellen Nachweis der Typhusbazillen für Fäces zur Verfügung stehenden Methoden recht roh. Selbst das jetzt wohl am meisten geübte Verfahren nach v. Drigalski und Conradi vermag, so bedeutende Vorzüge es auch besitzt, denjenigen nicht völlig zu befriedigen, der auch einmal die rein quantitative Seite ins Auge faſst. Diese quantitative Unzulänglichkeit wird später bewiesen werden. Eine gleiche Unzulänglichkeit muſs aber allen den Methoden der Typhusfäcesuntersuchung anhaften, bei welchen die verwendeten Nährböden den Koliarten günstigere Wachstumsbedingungen bieten als den Typhusbazillen. Als die Rothsche Beobachtung bei zahlreichen Kontrollversuchen ihre Bestätigung fand, muſste die Hoffnung rege werden, daſs Koffeinnährböden nun gerade für Fäcesuntersuchungen geeignet sein müſsten: denn das, was so manche ohne Erfolg erstrebt und was von vielen überhaupt für ein Ding der Unmöglichkeit gehalten wurde, war ja erreicht: ein und derselbe Nährboden lieſs Typhusbazillen wachsen und hinderte, ja vernichtete sogar Bacterium coli!

Sowie aber die Platten Drigalskis und Endos, die man nur mit Reinkulturen von Typhusbazillen und Bacterium coli beschickt hat, die Schwierigkeiten nicht ahnen lassen, die sich beim Ausstreichen von an Bakterienzahl und -arten reichen Fäces ergeben, so zeigten die mit Koffeinnährböden ausgeführten Fäcesuntersuchungen sehr bald, daſs so einfach die Dinge denn doch nicht liegen: uns ist noch kein Typhusstuhl zur Beobachtung gekommen, der nur B. coli und Typhusbazillen enthalten hätte, man muſs vielmehr, und namentlich bei übersandten Dejekten, mit allen nur möglichen Bakterienarten, und was für den Ausbau einer Methode nicht minder ins Gewicht fällt, mit den allerverschiedensten Keimzahlen rechnen. — Es ergab sich daher von selbst, daſs bei der Ausarbeitung der folgenden Methode zur Auffindung von Typhusbazillen in Dejekten von den Reinkulturen von B. coli Abstand zu nehmen war, daſs vielmehr

nur Fäces, normale und nicht normale, und später zur Erprobung des Verfahrens Typhusdejekte in Anwendung kommen mufsten.

Schon an anderer Stelle ist betont worden, dafs bei der Prüfung neuer, dem Typhusbazillennachweis dienender Methoden verschiedene Typhusstämme zur Aussaat zu benutzen sind, da sich die einzelnen Stämme in ihren vitalen Eigenschaften keineswegs gleichmäfsig erweisen. Gesetzmäfsigkeiten in diesem Verhalten konnten noch nicht aufgefunden werden. Das verschiedene Alter und die verschiedene Entfernung von der Generation im menschlichen Organismus erklärten die Differenzen allein nicht. Man gewinnt einen Einblick in diese biologischen Eigentümlichkeiten allerdings nur mit den exakten quantitativen Methoden, bei denen die jeweilige Wachstumsphase durch eine bestimmte Zahl zum Ausdruck gebracht wird, wie man ja überhaupt für die Prüfung der Gunst oder Ungunst von Nährböden den quantitativen Bestimmungen den Vorzug geben sollte.

Bei unseren Versuchen wurden stets Aussaat und Ernte in Ziffern wiedergegeben, wir vermieden den üblichen Ösenausdruck. Ein und dieselbe Hand kann gewifs mit derselben Öse recht vergleichbare Werte erhalten, aber in verschiedenen Händen ist doch die Ösenfassung hier und dort selbst bei der sog. Normalöse eine recht verschiedene, und was besagt es denn schliefslich, wenn man aus einem Bakteriengemisch, das mit $^1/_{100}$ oder $^1/_{1000}$ Öse Kultur versetzt war, die betreffenden Keime wieder herauszüchtet? Dem Fernerstehenden erscheint $^1/_{1000}$ Öse gewifs als eine unendlich kleine Menge; mit einer Normalöse enthielt $^1/_{1000}$ Öse einer 22 Stunden alten Typhusagarkultur (Stamm Halle) 16490; $^1/_{1000}$ Öse einer 20 Stunden alten Agarkultur (Typhus Gelsenkirchen) 10330 Typhusbazillen!

Als Ausgangsmaterial für die Typhusbazilleneinsaat dienten in den folgenden Versuchen immer 16—20 Stunden alte Typhusbouillonkulturen (lackmusneutrale Bouillon, 37°), von denen eine Anzahl Tropfen mittels steriler Pipette in sterilisierte, 25 ccm indifferente Aufschwemmungsflüssigkeit[1]) haltende Tropfgläser

1) M. Ficker, Über Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 29, S. 55.

gegeben wurden. Nach gleichmäfsigem Schütteln wurden hieraus mehrere Tropfen in ein weiteres, wieder mit 25 ccm Aufschwemmungsflüssigkeit versehenes Tropfglas gegeben und von dieser Mischung oder auch von einem in gleicher Weise hergerichteten dritten Tropfglas aus erfolgte die Aussaat in die zu prüfenden Nährlösungen, wobei dann die gleichen Tropfenmengen sofort zu Agarplatten behufs Feststellung der Keimzahl verarbeitet wurden.

Mit Hinblick auf vergleichbare Resultate war es für die Einsaat von Fäceskeimen unbedingt nötig, diese in gleichmäfsig verteiltem Zustande zu haben: es wurden daher feste Fäces in steriler Reibschale mit sterilisiertem destillierten Wasser verrieben und diese Suspension durch Filtrierpapier oder Watte filtriert. Diarrhöische Fäces wurden direkt filtriert. Das Filtrat kam auf ein sterilisiertes Tropfglas, wurde hierin sorgfältig durchgeschüttelt und nun in die Lösungen sowie in Agar zur Keimbestimmung gegeben.

I. Leistungsfähigkeit der nach den Vorversuchen mit Bact. coli-Reinkulturen empfohlenen Anreicherungslösung.

Es galt zunächst zu prüfen, ob und bis zu welchem Grade für künstliche Mischung von Fäces und Typhusbazillen diejenige Anreicherungslösung geeignet sei, die nach Vorversuchen eine gute Entwicklung von Typhusbazillen einerseits und eine befriedigende Zurückhaltung von B. coli-Reinkultur anderseits ermöglichte.

1. Versuch.

20 ccm filtrierten diarrhöischen Stuhls, von welchem 1 ccm 18 600 000 Bakterien enthielt, werden mit 420 Typhusbazillen versetzt, demnach 1 Tyb.[1]) auf 885 700 Fb.[1]). Von der Mischung wurden a) direkt sechs Drigalskiplatten (grofse Form) ausgestrichen, b) 3 ccm in 400 ccm Anreicherung gegeben; davon wurden nach 16 Stunden bei 37° α) Drigalskiplatten ausgestrichen, β) mit 200 ccm biologische Fällung, γ) mit 200 ccm Eisenfällung[2]) vorgenommen. Die bei β) und γ) erhaltenen Sedimente wurden nach geeigneter Behandlung [bei β) Schütteln mit Glasperlen, bei γ) Lösen mit neutr. weins. Kali[2])] auf Drigalskiplatten gegeben.

Resultat: auf keinem Wege konnten Tyb. nachgewiesen werden.

---

1) Tyb. = Typhusbazillen; Fb. = Fäcesbakterien.

2) Ficker, M., Über den Nachweis von Typhusbazillen im Wasser durch Fällung mit Eisensulfat. Hyg. Rundschau, 1904, Nr. 1. Nachtragsweise sei hier erwähnt, dafs das bei dieser Methode verwendete Eisensulfat Ferrisulfat ($Fe_2(SO_4)_3 + 9$ aqu.) ist und dafs bei der Herstellung der 10 proz. Sodalösung Kristallsoda zu nehmen ist.

2. Versuch.

Dieselbe Anordnung wie bei 1. Verhältnis 1 Tyb. auf 164000 Fb.
Resultat: Keine Tyb. nachweisbar.

3. Versuch.

Verhältnis 1 Tyb.:4900 Fb.
Resultat: alles negativ.

4. Versuch.

Verhältnis 1 Tyb.:2890 Fb.
Resultat: a) negativ, b) α negativ, β war wegen Mangels an Serum unterlassen worden, γ unter 25 abgestochenen Kolonien eine Typhuskolonie. (Identifizierung wie üblich zunächst mit Typhusserum in steigenden Verdünnungen, dann Isolierung und Identifizierung durch Agglutination im Röhrchen.)

Die Anreicherungslösung war also in dieser Zusammensetzung für praktische Zwecke nicht brauchbar. Das kann ja nicht wundernehmen. Überträgt man Fäces in die Anreicherung, so sind eben ganz andere Verhältnisse gegeben, als wenn man Reinkulturen einsät: im letzteren Falle sind, da ja nur junge Kulturen Verwendung fanden, neben den lebenden Bakterien nur vereinzelte tote vorhanden, die Fäcesaufschwemmung aber enthält massenhafte abgestorbene Bakterien[1]), daneben andere Mikroorganismen, ferner Zellen, Zelltrümmer, Nahrungsreste und andere korpuskuläre Elemente, die die Anreicherungslösung z. B. schon dadurch verändern, dafs sie das Kristallviolett speichern und damit indirekt die antiseptische Wirkung der Lösung vermindern. Es konnte aber auch die Wahrnehmung gemacht werden, dafs der Koffeingehalt der Lösung durch diese Fäceselemente eine Verminderung erfährt.

II. Versuche mit Variation des Pepton- und Soda-Zusatzes.

Um eine bessere Zurückhaltung der Fäceskeime bei noch günstiger Vermehrung der Typhusbazillen zu erzielen, wurde zunächst der Peptonzusatz variiert und die Reaktion geändert. Das Erstere mufste aus dem Grunde nicht als aussichts-

1) Eberle (Centralbl. f. Bakt., 1896, S. 2) findet, dafs nur 4,5—10,6% der Kotbakterien entwicklungsfähig sind; A. Klein (Sitzungsber. der Kgl. Akad. d. Wissensch., Amsterdam, 1901, 25. März) findet nur 1% und Strasburger (Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 46, 1902) sogar nur 0,07% wachstumsfähig.

los erscheinen, weil A. Fischer[1]) einmal bei stärkerem Peptongehalt (2 %) eine geringere Vermehrung des B. coli beobachtet hatte als bei 1 % Pepton.

5. Versuch.

Eine Portion Fleischwasserstammlösung erhielt neben 0,5 % Na Cl wie üblich 1 % Pepton, eine andere 6 %. Beide Lösungen wurden in je drei Teile geteilt und mit verschiedenen Reaktionsgraden versehen, indem Lösungen a den von Roth empfohlenen Punkt, Lösungen c den Phenolphthaleinrotpunkt und Lösungen b genau die in der Mitte zwischen den beiden Punkten der Lösungen a und c gelegene Reaktion erhielten. Filtrat sterilisiert, nach Erkalten mit Koffein etc., wie sonst, versetzt, so dafs nun 0,5 und 3 proz. Peptonlösungen vorlagen. Anreicherung wie immer bei 37°.

Pepton	a		b		c	
	0,5 %	3 %	0,5 %	3 %	0,5 %	3 %
A. Typhus Gelsenkirchen.						
Aussaat pro 1 ccm	134	134	134	134	134	134
nach 14 Stunden	1350	1700	100	2120	13	930
» 18 »	3750	2130	170	3600	16	1260
B. Fäcesbakterien.						
a) geringe Einsaat.						
Aussaat pro 1 ccm	90	90	90	90	90	90
nach 14 Stunden	0	0	1	0	5	0
» 18 »	0	0	0	0	0	0
b) stärkere Einsaat; pro 1 ccm	3950	3950	—	—	3950	3950
nach 14 Stunden	30	150	—	—	200	30
» 18 »	25	75	—	—	200	50
» 22 »	58	20	—	—	50	510

Resultat: Die Reaktion der Anreicherungsflüssigkeit ist für das Wachstum der Typhusbazillen von grofsem Einflufs, und zwar ist der Unterschied des Wachstums bei 0,5 % Pepton viel ausgeprägter als bei 3 %; während bei 0,5 % Pepton z. B. nach 14 Stunden beim Phenolphthaleinrotpunkt die Bakterienzahl auf das Zehnfache zurückgegangen ist, hat sich die Einsaatmenge bei dem von Roth festgesetzten Punkt auf das Zehnfache vermehrt. Der stärkere Peptongehalt gleicht diese Reaktionswirkung zum Teil aus; das Optimum des Typhusbazillenwachstums bei 3 % Pepton liegt dann nicht wie bei 0,5 % bei dem Rothschen

1) A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien, 1903, II. Aufl., S. 95.

Punkt, sondern näher nach der Phenolphthaleinalkalinität. Da wir nun bei Einsaat von Fäces in die Anreicherung infolge der verschiedenen, meist alkalischen Reaktion der Typhusdejekte die Reaktion der Lösung verändern und bei 0,5% Pepton befürchten müssen, dafs bei der Empfindlichkeit dieser Lösung gegenüber Reaktionsschwankungen anstatt der gewünschten Vermehrung des Typhusbazillen sogar eine Verminderung statthaben kann, so wird man der 3proz. Peptonlösung den Vorzug geben müssen.

In wie verschiedener Weise in Lösungen verschiedenen Peptongehaltes und verschiedener Reaktion sich Fäcesbakterien verhalten, zeigt der folgende Versuch, bei welchem die Phenolphthaleinneutralität ihrer für das Wachstum der Typhusbazillen ungünstigen Wirkung wegen in Wegfall kam. Um den Einflufs des Peptons besser zum Ausdruck zu bringen, kam hierbei nicht die übliche 1proz., sondern nur eine 0,8proz. Koffeinlösung zur Anwendung. Lösungen a und b hergestellt wie bei Versuch 5. Zur Aussaat kamen alte diarrhöische Fäces.

6. Versuch.

	I		II		III	
Pepton	0,5%		1%		2%	
Reaktion	a	b	a	b	a	b
Aussaat pro 1 ccm	26 500	26 500	26 500	26 500	26 500	26 500
nach 15 Stunden . .	3 960	1 160	438 000	5 070	130 000	5 380
» 18 » . .	101 000	560	1 900 000	5 460	638 000	180 000
» 21 » . .	334 000	370	7 952 000	6 800	5 064 000	36 700

	IV		V	
Pepton	3%		4%	
Reaktion	a	b	a	b
Aussaat pro 1 ccm	26 500	26 500	26 500	26 500
nach 15 Stunden .	59 000	74 000	173 000	1 040 000
» 18 » .	53 000	230 000	400 000	3 486 000
» 21 » . .	167 000	962 000	2 033 000	3 462 000

Resultat: Bei der stärkeren Alkalinität verläuft, wenn wir die Keimzahlen nach 15 Stunden betrachten, die Keimabnahme bzw. -Zunahme ganz gesetzmäfsig; bei niedrigerem Peptongehalt

stärkster Rückgang der Fäcesbakterien, zwischen 2 und 3% Pepton beginnt die Vermehrung.

Durch andere Versuche war festgestellt, dafs für Typhusbazillen vor allem Lösungen IIb und IV in Frage kamen.

7. Versuch.

	IVa	IVb
Typhus (Halle) Aussaat pro 1 ccm	980	980
nach 15 Std.	100150	9120
» 18 »	442300	19300

Würde man also die Lösung IVa zur Anreicherung nehmen, so kann man nach 15 Stunden eine Vermehrung der Typhusbazillen um das Hundertfache, einen Anstieg der Fäcesbakterien nur um das 2,2fache erwarten.

8. Versuch.

Verwendung diarrhöischer Fäces, Steigerung des Koffeinzusatzes, wie sonst, auf insgesamt 0,5%. Reaktion wie bei Versuch 6.

Lösung	IIb	IVa	IVa (kleinere Einsaat)
Aussaat pro 1 ccm	98 000	98 000	33 000
nach 13 Stunden .	28 000	53 000	9 400
» 16 » .	1 580 000	470 000	12 400

Aus allen diesen Versuchen erhellte immer wieder, dafs die Zurückhaltung der Fäcesbakterien von der Zahl der Einsaat und der Länge der Zeit abhängig war; man kann bei geringer Einsaat ein völliges Zugrundegehen der Fäcesbakterien erreichen und mufs bei stärkeren Eingaben auf eine Vermehrung gefafst sein. Wenn sich diese Verhältnisse voraussichtlich bis zu einem gewissen Grade bei jedem Anreicherungsverfahren konstatieren lassen werden, so konnte nun doch weiterhin versucht werden, ob nicht andere Mittel existieren, welche nicht in dem Mafse der quantitativen Bindung zugängig sind. Da ferner das Innehalten einer bestimmten Stundenzahl bei allen derartigen Versuchen von weitgehender Bedeutung ist, indem bis zu einem bestimmten Zeitpunkt sehr wohl eine Zurückhaltung, dann aber wieder ein Anstieg der Fäcesbakterien erfolgte, so dafs sich ein

Kurvensattel ergab, so wurde für die künftigen Versuche der Einfachheit halber in der Regel nur eine Entnahme, und zwar zumeist nach 13 Stunden vorgenommen.

III. Versuche mit Jodkalizusatz.

Bekanntlich hatte Elsner[1]) durch Jodkalizusatz zu einer Kartoffelgelatine einen Nährboden erhalten, der nach seinen Versuchen für B. coli und Typhusbazillen elektiv war. Da wir nun mit Koffein B. coli auszuschalten vermögen, so müfste es als nicht ausgeschlossen erscheinen, dafs durch eine Kombination dieser Substanzen ein nur für Typhusbazillen elektiver Nährboden zu gewinnen sei. In dieser Richtung sind Versuche mit festen Nährböden noch im Gange; für die Anreicherungslösung aber kann vorläufig ein Vorteil in dem Jodkalizusatz nicht erblickt werden. Die Zusätze von Jodkali bewegten sich in den Grenzen zwischen 0,25 und 2 % zu den verschieden reagierenden Lösungen mit variiertem Pepton-, Koffein- und Kristallviolettgehalt. Alle hierher gehörenden Versuche wiederzugeben, wäre zwecklos. Die ermutigendsten Versuche waren folgende:

9. Versuch. Lösung IV + 1 % Jodkali.

	A. Fäces, frisch	B. Typhus (G.)
Aussaat pro 1 ccm	984 000	227
» nach 14 Stunden	695 000	1 880
» » 17 »	1 800 000	5 110

10. Versuch.

	Lösung IIb ohne 1 % Jodkali	Lösung IIb mit 1 % Jodkali	Lösung IV ohne 1 % Jodkali	Lösung IV mit 1 % Jodkali
A. Fäces, frisch				
Aussaat pro 1 ccm .	12 900	12 900	12 900	12 900
nach 14 Stunden .	126	102	212	3 958
» 17 » . .	114	58	1 240	9 760
B. Typhus (Ti)				
Aussaat pro 1 ccm .	146	146	146	146
nach 14 Stunden. .	184	524	1 426	6 626
» 17 » . .	100	650	1 762	12 990

1) Elsner, Untersuchungen über elektives Wachstum der Bacterium-coli-Arten und des Typhusbazillus und dessen diagnostische Verwertbarkeit. Zeitschr. f. Hyg., 21. Bd., S. 25.

Bei Verwendung einer diarrhöischen Stuhlprobe und eines anderen Typhusstammes aber ergab sich folgendes:

11. Versuch.

Lösung IV mit 1,5 % Jodkali.

A. Fäces.	Aussaat pro 1 ccm	5020	B. Typhus (K)	1 ccm	99
	» nach 14 Std.	73000			2930

Die verschiedenen Stuhlsorten zeigten ein völlig wechselndes Verhalten in den mit Jodkali versetzten Lösungen. Die nähere Untersuchung ergab dann, dafs immer dann eine Hinderung der Fäcesbakterien ausblieb, wenn Proteusarten in den Fäces vorhanden waren. Diese, das Wachstum des Proteus begünstigende Wirkung des Jodkalis fällt um so mehr ins Gewicht, als wir für die nachfolgende Isolierung der Typhusbazillen auf Drigalskiplatten angewiesen sind und diese letzteren ja gerade den Proteusarten noch bessere Wachstumsbedingungen als den Typhusbazillen darbieten. Die auffallende Tatsache aber, dafs Elsner bei Wasser- und Erduntersuchungen auf seinem Nährboden Proteus nur höchst selten gedeihen sah, obschon die Kontrollplatten ohne Jodkali stets Proteus aufwiesen, werden uns Veranlassung geben, den Jodkalizusatz für feste Koffeinnährböden zu versuchen. — Von hygienischem Interesse mufs es aber gerade sein, den Typhusbazillus dann aufzufinden, wenn er mit Fäulnisbakterien vergesellschaftet ist; aus diesem Grunde wurde vorläufig von dem Jodkalizusatz abgesehen.

IV. Versuche mit Remys Nährstoffen.

Die Berichte von Remy[1]) über den Nachweis von Typhusbazillen mit Hilfe eines aus Asparagin, Oxalsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Binatriumphosphat, Kaliumsulfat, Magnesiumsulfat, Chlornatrium, Pepton und Milchzucker hergestellten, karbolisierten Gelatinenährbodens bestimmten uns, die Bestandteile dieses Nährsubstrates im Verein mit Koffein und Kristallviolett zu verwenden. Die eingehenden Prüfungen in dieser Hinsicht, bei denen nicht nur die Mengen der einzelnen Stoffe variiert und verschiedene Reaktionsabstufungen angewendet, sondern

1) Remy, Annal. de l'inst. Pasteur, vol. XIV, p. 555.

auch einzelne Zusätze weggelassen oder durch andere ersetzt wurden, können hier kein Interesse beanspruchen, da sie einen Fortschritt nicht brachten.

Das günstigste Resultat war das folgende:

Versuch 12.

a) Remys Substanzen in dem von ihm angegebenen Verhältnis gelöst, Milchzucker und Karbolsäure weggelassen; auf das 4fache mit aqu. dest. verdünnt, mit $\frac{n}{1}$ Na OH versetzt, so dafs noch $^1/_3$ vom Phenolphthaleinrotpunkt entfernt; Reaktion damit amphoter. b) wie a) nur Karbolzusatz nach Remy.

A. Fäces, Aussaat 1 ccm	= 39 500	B. Typhus G. Aussaat 1 ccm	151
a) nach 15 St.	1 770		1 002
b) » 15 »	1 036		78

Alle anderen Versuche lieferten ungünstigere Ergebnisse.

V. Versuche mit Kochsalzzusätzen.

Da durch die Zugabe der Koffeinlösung der Kochsalzgehalt unserer Lösung auf die Hälfte des sonst üblichen herabsank, so war zu versuchen, ob durch Erhöhung desselben für Typhusbazillen vielleicht günstigere Bedingungen herbeigeführt werden konnten. Es trat das Gegenteil ein: in jedem Falle der NaCl-erhöhung auf insgesamt 0,5, 0,6, 0,75 und 1 % wurden die Fäcesbakterien bedeutend schlechter zurückgehalten.

VI. Erhöhung des Koffein- und Kristallviolettzusatzes; Ersatz der Sodalösung durch NaOH.

Da der erhöhte Peptongehalt unserer Lösung Vorteile brachte, so fragte es sich, ob für das so mit reicheren Nährstoffen versehene Substrat nun nicht auch zur noch besseren Zurückhaltung der Fäcesbakterien der Koffeingehalt sowie der Kristallviolettzusatz eine Steigerung erfahren dürfe.

Versuch 13.

a) Fleischwasserstammlösung, wie in allen folgenden Versuchen, mit 6 % Pepton und 0,5 % NaCl; b) erhält 8 % Pepton und 0,5 % NaCl. Reaktion wie Versuch 12. Erhöhung des Koffeinzusatzes auf insgesamt 0,75 %. Erhöhung des Kristallvioletts: auf 40 ccm Anreicherung 0,5 Kristallviolett 0,1 : 100.

		3 % Pept.	4 % Pept.
A. Fäces.	Aussaat pro 1 ccm	1469000	1469000
	nach $13^1/_2$ Std.	1840	67900
B. Typhus (Dr. I.)	Aussaat pro 1 ccm	115	115
	nach $13^1/_2$ Std.	210	286

Resultat: Der gewählte höhere Koffein- und Kristallviolettzusatz ermöglichte den Typhusbazillen nur eine minimale Entwicklung. Allerdings wirkte gleichzeitig dieselbe Lösung auf die Fäcesbakterien (3 % Pepton) wie ein Desinfektionsmittel. Man würde doch, wenn man in einem Typhusstuhl unter 12770 Fäcesbakterien 1 Typhusbazillus vorhanden gewesen wäre, durch Einsaat in die Lösung nach $13^1/_2$ Stunden die Möglichkeit haben, diesen Typhusbazillus unter 8—9 Fäcesbazillen herauszufinden oder: wenn man mit einem der Anreicherung folgenden Verfahren, wie mit den Drigalskiplatten, noch imstande ist, unter 300 Fäceskolonien 1 Typhuskolonie aufzufinden, so müfste man 1 Typhusbazillus unter 439000 Fäcesbakterien des Ausgangsmaterials nach Kombination dieser Anreicherung mit Drigalskiplatten nachweisen können. Für unsere Zwecke ist diese Lösung aber unbrauchbar, da sie nur in so geringem Mafse eine Vermehrung der Typhusbakterien zuläfst: es ist dann nicht ausgeschlossen, dafs in derselben Lösung in ihren vitalen Eigenschaften geschädigte Individuen überhaupt nicht zur Entwicklung gelangen, oder sogar zugrunde gehen.

Versuch 13 ergiebt auch, dafs man von einer Steigerung des Peptongehaltes über 3 % insgesamt hinaus, nichts zu erwarten hat.

Da in der Folge der Einflufs der Reaktion der Lösung sich wiederholt geltend machte und eine Gleichmäfsigkeit hierin sich als wichtiges Erfordernis herausstellte, so mufste von der Sodalösung abgesehen werden. Zur Austitrierung des Säuregrades des Fleischwassers, die ja von Fall zu Fall vorzunehmen war, erwies sich die Sodalösung als wenig brauchbar, der Umschlag nach dem Phenolphthaleinrot ist kein scharfer, man erhält keine vergleichbaren Endreaktionen. Die gewünschte Schärfe des Umschlages erreicht man aber unter Titration mit $NaOH$.

Zur Fixierung des günstigsten Reaktionspunktes hielten wir es für angebracht, nicht anzugeben, welchen Teil der von der natürlichen Säure des Fleischwassers bis zum Phenolphthaleinrotpunkt aufzuwendenden Natronlauge dem Fleischwasser zuzusetzen sei, sondern vielmehr: wie weit entfernt sich der zu empfehlende Punkt von dem Phenolphthaleinrot befindet. Der letztere Punkt ist ein fester, derjenige des natürlichen Säuregrades aber nicht. Die ersten orientierenden Versuche mit NaOH schlugen vollständig fehl.

14. Versuch.

Lösung I = Fleischwasser mit 6% Pepton, 0,5% NaCl, nach Roth mit dem 2,6. Teil der Menge Normalsodalösung versetzt, die man brauchen würde, um das Fleischwasser bis zum Phenolphthaleïnpunkt zu neutralisieren. 0,5% Koffeinzusatz; Kristallviolett 0,2 ccm einer 0,1 proz. Lösung auf 40 ccm Anreicherung.

Lösung II wie I aber anstatt mit Soda mit dem dritten Teil der bis zum Phenolphthaleinpunkt verbrauchten Menge $\frac{n}{1}$ NaOH versetzt.

	I	II
A. Fäces 1 ccm Aussaat	8200	8200
nach 14 Std.	780	72000
B. Typhus (G.)	47	47
	9040	25150

Resultat: Die Natronlauge begünstigte das Wachstum der Typhusbazillen und Fäcesbakterien, die letzteren in stärkerem Mafse.

Schon Roth war ja wieder zur Sodalösung zurückgekehrt. Es war aber doch der mit NaOH exakter auszuführenden Titration wegen wünschenswert, festzustellen, ob durch Reaktionsabstufungen dies weniger günstige Verhalten des NaOH auszuschalten ging.

15. Versuch.

Fleischwasser (6% Pepton, 0,5% NaCl), 20 ccm verbrauchen 0,9 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH. Es werden vier Abstufungen hergestellt, so dafs je 100 ccm des Fleischwassers a) 0,75, b) 1,0, c) 1,25, d) 1,5 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH erhalten.

Koffein insgesamt 0,7%. Kristallviolett 0,5 einer 0,1 proz. Lösung auf 40 ccm Anreicherung.

Lösung	a	b	c	d
A. Fäces. Aussaat pro 1 ccm . . .	899 000	899 000	899 000	899 000
nach 13 Stunden	77 500	57 800	50 300	70 000
B. Typhus (G.). Aussaat pro 1 ccm	76	76	76	76
nach 13 Stunden	320	310	494	32

16. Versuch.

Reaktionsabstufung der Fleischwasserlösung wie bei Versuch 15. Koffein insgesamt 0,6 %, Kristallviolett 0,4 ccm. Zum Vergleich eine Lösung e) nach Roth mit Soda versetzt, Koffein und Kristallviolett wie bei a—d.

	a	b	c	d	e
A. Fäces.					
Aussaat pro 1 ccm . .	152 600	152 600	152 600	152 600	152 600
nach 13 Stunden .	42 500	37 200	63 800	106 800	27 000
B. Typhus (G.).					
Aussaat pro 1 ccm . .	880	880	880	880	880
nach 13 Stunden .	7 530	14 700	36 500	82 800	650

Resultat: Unter Verwendung von NaOH war eine so günstige Zurückhaltung der Fäcesbakterien wie bei Soda nicht zu erhalten, dafür verhielten sich bei dieser Zusammensetzung — erhöhter Koffein- und Kristallviolettzusatz — die Typhusbazillen bei weitem günstiger. Der günstigste Reaktionspunkt lag also in diesen Versuchen 3,25 bis 3,5 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH für 100 ccm Fleischwasser vom Phenolphthaleïnpunkt entfernt. Dieser Punkt wurde zunächst beibehalten.

17. Versuch

variiert den Koffein- und Kristallviolettzusatz, Lösung 1. 20 ccm Stammlösung, wie eben geschildert mit NaOH versetzt, āā 1,2 % Koffein + 0,3 ccm Kristallviolett (0,1 %). Lösung 2. wie 1 nur 0,2 ccm Kristallviolett. 3. wie 1 nur āā 1,4 % Koffein. 4. wie 3 nur 0,2 ccm Kristallviolett. 5. 20 ccm Fleischwasser + 30 ccm 1,2 proz. Koffein + 0,2 proz. Kristallviolett.

	1	2	3	4	5
A. Fäces.					
Aussaat pro 1 ccm . .	474 000	474 000	474 000	474 000	474 000
nach 13 Stunden .	60 000	90 000	4 400	7 400	4 060
B. Typhus (G.).					
Aussaat pro 1 ccm . .	213	213	213	213	213
nach 13 Stunden .	1 033	1 513	296	312	3 480

Resultat: In der Fassung 5 kann man also Typhusbazillen auf das 16,3fache sich vermehren, Fäcesbakterien auf das 116-fache zurückgehen sehen, oder mit anderen Worten: 10000 Fäcesbakterien gehen auf 86 zurück, 1 Typhusbazillus vermehrt sich auf 16. Wenn man also auf einem festen Nährboden unter 300 fremden Kolonien 1 Typhuskolonie auffinden kann, wie das auf Drigalskiplatten der Fall ist, so würde man mit dieser Anreicherung noch die Chancen haben, bei einem Ausgangsmaterial, das auf 568600 Fäcesbakterien 1 Typhusbazillus enthält, diesen herauszufinden.

Wenn diese Lösung noch nicht für die endgültige Fassung beibehalten wurde, so hat das wiederum seinen Grund darin, daſs nicht jede Fäcessorte sich in der gleichen Weise verhielt; in älteren Fäcesproben konnten damit fluoreszierende Arten nicht genügend zurückgehalten werden. In der Folge wurden für die Versuche in erster Linie faulende Fäces sowie diejenigen Typhusstämme benutzt, die erfahrungsgemäſs sich am trägsten vermehrten.

18. Versuch.

Reaktion wie bei Versuch 17.

Lösung 1. 20 ccm Stammlösung + 30 ccm 1,2 proz. Koffein + 0,2 ccm Kristallviolett (0,1 ‰). 2. wie 1, aber 40 ccm Koffeïnlösung. 3. + 30 ccm 1,0 proz. Koffein + 0,2 ccm Kristallviolett. 4. wie 3, aber 40 ccm 1,0 proz. Koff.-Lös. 5. + 30 ccm 1,0 proz. Koff.-Lös. + 0,3 ccm Kristallviolett. 6. + 40 ccm 1,0 proz. Koff.-Lös. + 0,3 ccm Kristallviolett.

	1	2	3	4	5	6
A. Fäces, stark faulend.						
Aussaat pro 1 ccm	9040	7540	9040	7540	9040	7540
nach 13 Stunden	354	214	2300	274	4300	312
B. Typhus (To).						
Aussaat pro 1 ccm	231	192	231	192	231	192
nach 13 Stunden	1058	160	840	320	788	212

19. Versuch.

Reaktion wie bei Versuch 17.

Lösung 1. 20 ccm Stammlösung + 25 ccm 1 proz. Koff.-Lös. 2. + 15 ccm 1,2 proz. Koff.-Lös. 3. + 25 ccm 1,1 proz. Koff.-Lös. 4. + 20 ccm 1,1 proz. Koff.-Lös. 5. + 15 ccm 1,1 proz. Koff.-Lös. 6. + 15 ccm 1,0 proz. Koff.-Lös. Kristallviolett überall 0,2 ccm 0,1 proz. Lösung.

	1	2	3	4	5	6
A. Fäces, faulend.						
Aussaat pro 1 ccm	186 000	239 000	186 000	209 500	239 000	239 000
nach 13 Stunden	512 000	569 000	303 000	536 000	663 000	1 308 000
B. Typhus.						
Aussaat pro 1 ccm	234	300	234	263	300	300
nach 13 Stunden	1 048	4 884	288	854	17 134	75 500

Von nun ab wurde als geeignetster Reaktionspunkt derjenige gewählt, der 2,7 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH pro 100 ccm Stammlösung vom Phenolphthaleïnrot entfernt liegt.

20. Versuch.

Lösung 1. 20 ccm Stammlösung + 15 ccm 1,3 proz. Koff.-Lösg. 2. + 18 ccm derselben Koff.-Lös. 3. + 15 ccm 1,4 proz. Koff.-Lös. 4. wie 3, nur 18 ccm Koff.-Lös. 5. + 20 ccm 1,2 proz. Koff.-Lös. Kristallviolettzusatz: überall 0,25 ccm 0,1 proz. Lösung.

	1	2	3	4	5
A. Fäces.					
Aussaat pro 1 ccm . .	4 400	4 030	4 400	4 030	3 840
nach 13 1/2 Stunden .	780	650	940	330	470
B. Typhus.					
Aussaat pro 1 ccm . .	144	132	144	132	126
nach 13 1/2 Stunden .	20 500	5 040	8 570	1 470	5 140

21. Versuch.

Lösung 1. 20 ccm Stammlösung + 18 ccm 1,4 proz. Koff.-Lös. 2. + 21 ccm 1,2 proz. Koff.-Lös. 3. + 18 ccm 1,3 ccm Koff.-Lös. Kristallviolett 0,25 ccm.

	1	2	3
A. Fäces, faulend. Aussaat pro 1 ccm . . .	2850	2700	2850
nach 13 Stunden	420	122	4600
B. Typhus M. Aussat pro 1 ccm	139	132	139
nach 13 Stunden	1950	4280	4580
C. Typhus To. Aussaat pro 1 ccm	87	80	87
nach 13 Stunden	916	1786	2510

Wenn hiernach die Fassung 5 Vers. 20 oder Fassung 2 Vers. 21 die günstigsten zu sein schienen, so war doch die Aussaatmenge in beiden Versuchen zu gering bemessen gewesen.

Der nächste Versuch mit gröfserer Fäcesbakterienaussaat wird vor allem deshalb angeführt, weil er die wichtige Beobachtung liefert, dafs man unter Verwendung einer alten Koffeinlösung — die vorliegende war nachweisbar 32 Tage alt — zu völlig ungenügenden Resultaten kommen kann.

22. Versuch.

Lösung 1. 20 ccm Stammlösung + 20 ccm alter 1,2proz. Koff.-Lös. 2. + 23 ccm derselben Koff.-Lös. und 3. + 25 ccm derselben Koff.-Lös. Kristallviolett wie bei 21.

	1	2	3
A. Fäces, 1 Tag alt. Aussaat pro 1 ccm. . .	37 500	35 750	34 000
nach 13 Stunden	14 000	5 600	3 500
B. Fäces, 3 Tage alt. Aussaat pro 1 ccm . .	17 800	16 900	15 800
nach 13 Stunden	85 000	13 000	4 800
C. Typhus To. Aussaat pro 1 ccm	107	102	94
nach 13 Stunden	5 920	2 844	942

23. Versuch.

Wiederholung von Versuch 22, aber frische 1,2proz. Koffeïnlösung, Steigerung des Kristallviolettzusatzes auf 0,3 ccm, für Lösung 1 nicht Zusatz von 20 ccm, sondern 21 ccm Koffein.

	1	2	3
A. Fäces, frisch. a) Aussaat pro 1 ccm . . .	62 800	57 500	54 000
nach 13 Stunden	1 800	1 500	1 300
b) Aussaat pro 1 ccm . . .	35 900	32 900	30 900
nach 13 Stunden	400	350	250
c) Aussaat pro 1 ccm . . .	9 000	8 200	7 700
nach 13 Stunden	52	64	116
B. Typhus To. Aussaat pro 1 ccm	108	99	93
nach 13 Stunden	1 342	244	114

Ein weiterer Versuch (24) sollte nochmals die Richtigkeit des Reaktionspunktes prüfen: Lösung 1 erhielt die 2,7 ccm, Lösung 2 die 3 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH vom Rotpunkt entfernte Reaktion. Kristallviolett: 0,25 ccm.

	1	2
A. Fäces, faulend. a) Aussaat pro 1 ccm . . .	96 300	96 300
nach 13 Stunden . . .	15 600	16 300
b) Aussaat pro 1 ccm . . .	9 600	9 600
nach 13 Stunden . . .	98	110
B. Typhus Milz.	192	192
nach 13 Stunden	4 896	3 710
C. Typhus Miedl.	208	208
nach 13 Stunden	6 128	4 076

Bleibt man bei der Fassung 1 dieses Versuches stehen, so müſste es noch in faulenden Fäces möglich sein, unter 47300 Fäcesbakterien 1 Typhusbazillus nachzuweisen, bei der Verwendung frischer Fäces aber könnte man, wie Vers. 23,1 zeigt, je nach der Menge des Aussaatmateriales 1 Tyb. noch unter 130000 bzw. 335000 Fäceskeimen finden.

Es bleibt noch übrig über Versuche zu berichten, die dahin zielten, das immerhin teuere Rindfleischwasser durch Pferdefleischwasser und das Pepton durch ein anderes Eiweiſspräparat zu ersetzen. Diese Versuche haben bislang zu keinem positiven Resultat geführt. Es soll hier nur hervorgehoben werden, daſs sowohl Pferdefleischwasser als Nährstoff Heyden die Entwicklung der Fäcesbakterien auſserordentlich begünstigten, ohne daſs damit der Typhusbazillus gleichen Schritt hielt.

VII. Versuche über die praktische Leistungsfähigkeit der Methode.

Zunächst wurden normale und diarrhöische Fäces mit Typhusbazillen in ähnlicher Weise wie bei Vers. 1—4 versetzt und darnach die unten kurz zusammengefaſste Methode in Anwendung gebracht; es zeigte sich, daſs bei Kombination mit dem Drigalskischen Verfahren die Typhusbazillen unschwer wiederzufinden waren, wenn vor der Anreicherung 1 Typhusbazillus auf 12000, 31000, 40000, 44000 sowie 53000 Fäceskeime traf. Die obere Grenze wird im Zusammenhange mit anderen Fragen bestimmt werden.

Was die Versuche mit Typhusstühlen anlangt, so wurden aus verschiedenen Spitälern Dejekte von Typhuskranken bezogen,

bei denen die Diagnose anderweitig sicher gestellt war. Da, wie schon eingangs erwähnt, die Fäcesuntersuchungen für die klinische Diagnose nach den Resultaten der Blutuntersuchungen an Bedeutung verloren haben, so wurde bei unseren Versuchen auch kein Wert darauf gelegt, einen klinisch-diagnostisch wichtigen Typhusbazillennachweis zu liefern. Elf zur Untersuchung herangezogene Typhusstühle aus der 2. und 3. Woche ergaben nach Übertragen in die Koffeinlösung und Ausstreichen auf Drigalskiplatten sämtlich ein positives Resultat. Es war von Wert, darüber Aufschlufs zu erhalten, ob diese Methode nun wirklich mehr zu leisten vermochte als das einfache Drigalski-Verfahren: in acht Fällen wurden gleichzeitig Koffeinlösungen angesetzt und derselbe Stuhl auf Drigalskiplatten (sechs grofse) ausgestrichen. Es konnte in vier Fällen mit Hilfe der beiden Methoden der Nachweis von Typhusbazillen erbracht werden, während in den vier anderen Fällen nur die nach der Anreicherung angelegten Drigalskiplatten Typhuskolonien enthielten.

Bei der Untersuchung von fünf Rekonvaleszentenstühlen versagte die Methode in einem Falle, in vier dieser Stühle gelang der Nachweis. Unter den letzteren positiven Fällen bereitete einer insofern Schwierigkeiten, als auf den von der Anreicherung angelegten Drigalskiplatten Typhusbazillen nicht nachzuweisen waren; es wurde die biologische Fällung von der im Eisschrank aufbewahrten Koffeinlösung ausgeführt und von dem mit Glasperlen zerschüttelten Sediment wiederum Drigalskiplatten angelegt, die nunmehr den Nachweis gestatteten.

Schliefslich gelangten noch vier Stühle von Wärtern typhuskranker Patienten zur Untersuchung; hierbei gelang ein Nachweis von Typhusbazillen nicht.

Nach diesen Erfahrungen mufs die Koffeinmethode für Stuhluntersuchungen empfohlen werden. Wollen wir hier noch Besseres erzielen, so wird es sich vor allem noch nötig machen, feste Nährböden zu konstruieren, die eine leichtere Isolierung der in der Anreicherungslösung befindlichen Typhusbazillen ermöglichen. Wir sind uns ja wohl doch überhaupt noch nicht recht im klaren über die quantitative Leistungsfähigkeit

unserer bisherigen Methoden. Es war z. B. wünschenswert, diese für die Drigalskiplatten zu bestimmen. Aus diesem Grunde wurden bekannte Mengen Typhusbazillen zu bekannten Mengen Fäcesbakterien zugesetzt, wobei durch Verdünnen mit dest Wasser für eine gleichmäfsige Mischung Sorge getragen wurde. Es folgte das Ausstreichen auf sechs grofse Drigalskischalen. In keinem Falle konnten Typhusbazillen wiedergefunden werden, wenn auf 1 Typhusbazillus mehr als 310 Fäcesbakterien trafen. Es mufs zugegeben werden, dafs bei zufällig günstigerer Verteilung auf den Platten noch bessere Resultate erhalten werden können, in der Regel aber wird gewifs schon eine recht hohe Zahl von Typhusbazillen dazu gehören, wenn sie allein mit dem Ausstreichen auf einen Nährboden, der anderen Keimen weit zuträglicher ist, nachgewiesen werden sollen. Es ist sicher, dafs die Typhusbazillen auf den Drigalskiplatten durch schneller wachsende Bakterien, wie B. coli, Proteus, Fluorescens, häufiger als man gemeinhin annimmt, überwuchert werden, und dafs schon dadurch ein Ausfall an Typhusbazillen gegeben ist, wie wir ja eben gar nicht so selten auf diesen Platten Mischkolonien aus zwei, ja auch aus drei Arten bestehend, antreffen, denen man das Nebeneinander von Keimen mit blofsem Auge nicht ansieht. Dafs bei der Methode des Ausstreichens von Bakteriengemischen auf Nährbödenoberflächen niemals eine so exakte Trennung der Arten möglich ist wie bei der klassischen Methode des Schüttelns in flüssigen, festwerdenden Substraten, ist ohne weiteres klar. So wird denn auf einem Nährboden, der anderen Keimen noch bessere Wachstumsbedingungen wie den Typhusbazillen bietet, an denjenigen Stellen, an welchen Typhus- und Kolibazillen dicht nebeneinander liegen, nun nicht gerade eine Typhuskolonie zu erwarten sein.

Es folgt aus solchen Beobachtungen und Überlegungen, dafs es heute mit einer Typhusanreicherung allein noch nicht getan sein kann, sondern dafs sich die Bestrebungen darauf richten müssen, zum Zweck der Isolierung von Typhusbazillen auch feste Nährböden zu beschaffen, die quantitativ mehr leisten wie die bisherigen.

VIII. Zusammenfassung.

a) Methode.

I. Fleischwasser-Stammlösung. 1 kg zerkleinertes Rindfleisch in Emailtopf mit 2 l aqu. dest. übergiefsen; Topf wiegen; auf 50—55° erwärmen; 1/2 Stunde bei dieser Temperatur lassen; unter Umrühren mit Glasstab zum Kochen erhitzen; 1/2 Stunde im Kochen erhalten; wiegen, verdampftes Wasser ersetzen. Fleischwasser durch Filtergaze durchpressen, messen, mit 6 proz. Pepton. sicc. Witte und 0,5 proz. Na Cl versetzen; erhitzen, bis Pepton gelöst; filtrieren; Filtrat in Erlenmeyer oder Bierflaschen — mit Fliefspapierkappe versehen — 2 Stunden im Dampf sterilisieren.

II. Anreicherungslösung. 100 ccm Stammlösung in steril. Mafszylinder abmessen, in steril. Erlenmeyerkolben übertragen, mit $\frac{n}{1}$ Na O H [1]) versetzen, 10 Min. im Dampf sterilisieren; erkalten lassen; 105 ccm einer 1,2 proz. Koffeinlösung [2]), in steril. Mafszylinder abgemessen, zufügen; hierzu mittels steriler Pipette 1,4 ccm einer 0,1 proz. Kristallviolettlösung.

III. Stuhleinsaat:

a) Wenn Stuhl dünnflüssig: einige Minuten im Reagensglas absetzen lassen; vom Obenstehenden [4]) 0,8—0,9 ccm in Anreicherungslösung.

b) Wenn Stuhl dickflüssig: in steriler Reibschale mit 1 Teil 1,2 proz. Koffeinlösung verreiben; durch sterile Watte filtrieren; vom Filtrat [4]) 0,8—0,9 ccm in Anreicherungslösung.

c) Wenn Stuhl fest: ein Teil in steriler Reibschale mit zwei Teilen 1,2 proz. Koffeinlösung verreiben, weiter wie bei b).

Nach Einsaat in jedem Falle gut schütteln, dann bei 37° halten.

IV. Typhusbazillennachweis. Nach 13 Stunden von der sorgfältig geschüttelten Lösung hängenden Tropfen fertigen:

a) Bei spärlichem Wachstum: sechs grofse Drigalski-Agarschalen impfen; Schale 1 mit 0,3—0,35 ccm Anreiche-

1), 2), 3) u. 4) Siehe Bemerkungen S. 256 u. 257.

rungslösung; Schale 3 mit 0,25; Schale 5 mit 0,1 bis 0,15 ccm. Die Schalen 2, 4, 6 sind Verdünnungsschalen für 1, 3, 5. Ausstreichen mit Glasspatel,

b) Bei reichlichem Wachstum: sieben grofse Drigalski-Agarschalen impfen; Schale 1 erhält 0,2, Schale 4 0,15 ccm; Schale 6 0,1 ccm. 2, 3, 5, 7 sind Verdünnungsschalen für 1, 4, 6.

Identifizieren der typhusverdächtigen Kolonien wie üblich.

V. Anreicherung währenddessen im Eisschrank aufbewahren; falls Schalen sub 4 negativ: biologische Fällung. Sediment durch Schütteln mit Glasperlen zerteilen, Ausstreichen auf Drigalskischalen.

b) Bemerkungen.

Zu 1: Zunächst ist die Azidität der Fleischwasser-Stammlösung zu bestimmen: man versetzt 25 ccm mit Phenolphthalein und titriert mit $\frac{n}{1}$ NaOH. Da die Säure des Fleischwassers Schwankungen unterliegt, mufs nach der jedesmaligen Fleischwasserherstellung eine Titration ausgeführt werden. Ebenso ist es nötig, den Inhalt der Vorratsflaschen, die man geöffnet und wieder aufsterilisiert hat, bei weiterer Verwendung nochmals auf den Säuregrad zu prüfen. Die Titration ist auszuführen, nachdem durch Erhitzen die CO_2 entfernt und das Fleischwasser durch Einstellen in ein Wasserbad eben wieder Zimmtemperatur angenommen hat. Die für das Wachstum der Typhusbazillen bzw. die Zurückhaltung der Fäceskeime günstigste Reaktion ist erreicht, wenn dem Fleischwasser soviel Normalnatronlauge zugegeben wurde, dafs der erhaltene Reaktionspunkt genau 2,7 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH vom Phenolphthaleinrotpunkt entfernt ist oder mit anderen Worten man gibt dem Fleischwasser 38,64 % der zur Neutralisierung bis zur Phenolphthaleinrotfärbung nötigen $\frac{n}{1}$ NaOH-Menge zu.

Beispiel: 25 ccm Stammlösung verbrauchen 1,1 ccm NaOH. Sollen 100 ccm dieses Fleischwassers zur Anreicherung ver-

wendet werden, so erhalten diese $(4 \times 1{,}1) - 2{,}7 = 1{,}7$ ccm $\frac{n}{1}$ NaOH.

Zur Verhütung von Mifsverständnissen sei erwähnt, dafs bei diesem Punkt nicht im allgemeinen das Optimum für Typhusbazillen gelegen ist, sondern gerade nur für die herzustellende Anreicherungslösung.

Zu 2: Das Koffein ist auf feiner chemischer Wage abzuwiegen. Das destillierte Wasser mufs steril sein. Erhitzen der Lösung wurde vermieden, das Koffein löst sich bei dieser Konzentration unter Schütteln kalt. Die Lösung ist von Fall zu Fall frisch zu bereiten und darf nicht mit Fleischwasser zusammen erhitzt werden.

Zu 3: Kristallviolett ist ebenfalls auf der feinen Wage abzuwiegen. Das Lösen mufs in sterilem Mafskolben mit kaltem sterilen destillierten Wasser unter Schütteln vorgenommen werden.

Zu 4: Das Einbringen von nicht genügend zerteilten Fäcespartikelchen ist auf das Peinlichste zu vermeiden.

D. Wasseruntersuchung.

Die Schwierigkeiten, die bei einer Untersuchung von Wasser auf Typhusbazillen bestehen, sind wohl allgemein bekannt und ist einwandsfrei der Nachweis von Eberthschen Bazillen im Wasser trotz der unendlichen Reihe solcher Untersuchungen nur in einer verschwindend kleinen Zahl gelungen.

Es war deshalb von Anfang an klar, dafs mit dem Zusatz einer kleinen Menge Wassers zu einer Koffeinkristallviolettbouillon eine für die Praxis brauchbare Methode kaum zu schaffen war; denn wenn Typhusbazillen durch die Stühle von Typhuskranken bzw. Rekonvaleszenten, oder deren Urin, oder durch Badewasser von Typhuskranken usw. in einen Brunnen oder Flufs oder eine Wasserleitung gelangen, so ist wohl sicher anzunehmen, dafs sie sich bald in dem ganzen Wasserquantum verteilen, indem auch die festeren Kotpartikelchen — ob im Kot die Typhusbazillen mehr an der Oberfläche oder im Innern sich befinden, darauf ist bei den Typhusuntersuchungen bisher noch

nicht genau genug geachtet worden — sich alsbald gröfstenteils auflösen werden.

Aussicht auf Erfolg kann hiernach nur eine Untersuchung haben, wenn sie — wie bei der Choleradiagnose — grofse Wassermengen zum Durchsuchen gestattet.

Zunächst war es von Bedeutung, Klarheit darüber zu erlangen, ob und wie das Koffein und das Kristallviolett die gewöhnlichen Wasserkeime beeinflufst.

Wirkung des Kristallvioletts auf Spreewasserkeime.

Von einer zu jedem Versuche frisch hergestellten 0,1 proz. Kristallviolettlösung wurde in abgestuften Mengen 0,5—5 ccm 100 ccm stets frischgeschöpften Spreewassers zugegeben. Keimzahl pro 1 ccm berechnet.

	0,5 ccm	1 ccm	2 ccm	5 ccm	Spreewasser ohne Zusatz
Bei Beginn des Versuchs .	84 475	84 475	84 475	84 475	84 475
nach 12 Std. bei 37° . .	386 630	340 942	85 120	0	374 850
Diese Befunde sind die Resultate einer 5tägigen Beobachtung der Platten bei 22°.	3 verflüssigende und einig. fluoreszierende Kolonien auf der Platte gegossen mit 0,1.	2 verflüssigende und 5 fluoreszierende Kolonien auf der Platte gegossen mit 0,1.	Keine verflüssigende und 2 fluoreszierende Kolonien auf der Platte gegossen mit 0,1.	—	unzählig. verflüssigende und fluoreszierende Kolonien auf der Platte gegossen mit 0,01.

In einem zweiten Versuch wurde nochmals 2 ccm, dann 3 und 4 ccm Kristallviolettlösung 100 ccm Spreewasser beigemischt.

	2 ccm	3 ccm	4 ccm
Bei Beginn des Versuchs	33 518	33 518	33 518
nach 12 Std. 37° . . .	2 500	0	0

Es war hierdurch bewiesen, dafs ein Zusatz von 0,002 % Kristallviolett in zwölf Stunden bei einer Temperatur von 37° C

Wasserkeime in ihrer Entwicklung schädigt und 0,003—0,005 % stark bakterizid beeinflufst.

Wirkung des Koffeins auf Spreewasserkeime.

Es wurden von einer 5proz. sterilen wässerigen Koffeinlösung 10, 11, 12 und 20 ccm 100 ccm Spreewassers zugesetzt, so dafs der Koffeingehalt ca. 0,5 % bzw. 0,55 % bzw. 0,6 % und 1,0 % betrug.

Die verschiedenen Keimzahlen bei Beginn des Versuchs erklären sich aus dem Zusatz der verschieden grofsen Menge der Koffeinlösung, wodurch eine entsprechende Verringerung der Keime pro 1 ccm eintrat. Die Wirkung ist aus der Tabelle deutlich erkennbar.

	0,5 %	0,55%	0,6 %	1 %	Ohne Zusatz
Bei Beginn des Versuchs	127 588	127 588	127 588	116 955	140 347
Nach 12 Std. bei 37°	10 149	8 458	2 691	129	591 484
Kolonien	viele fluoreszier. viele verflüssigend.	wie bei 0,5 %.	vereinzelte fluoreszier. mehrere verflüssig.	keine fluoreszier. 4 verflüssigende	wie bei 0,5 %.

Wirkung des Koffeins in Verbindung mit Kristallviolett auf Spreewasserkeime (pro 1 ccm).

	0,002 % Krist.	0,6 % Koffein	0,002 % Krist. + 0,6 % Koff.
Bei Beginn des Versuchs .	33 518	30 166	30 166
Nach 12 Std. bei 37 °C. .	2 500	1 652	14

Es war hiernach durch Kombination des Koffeins mit Kristallviolett eine noch stärkere baktericide Beeinflufsung der Wasserkeime zu erzielen.

Um gröfsere Wassermengen untersuchen zu können, wurde durch Zusatz von einer 50 proz. Pepton- (Witte-) Lösung, die 25 % Kochsalz enthielt, z. B. zu 200—500 ccm Leitungs- oder Spreewasser so viel zugefügt, dafs eine 1 proz. Peptonlösung mit 0,5 % Kochsalz entstand.

Denselben Zusatz der Peptonkochsalzlösung erhielt dasselbe Quantum sterilen Leitungswassers, um zunächst durch Versuche mit Reinkulturen festzustellen, wie sich der Typhus- und Colibazillus in obigen Flüssigkeiten verhielt, wenn sie den entsprechenden Gehalt an Koffein (0,5 %) und Kristallviolett (0,5 % der Lösung 0,1 : 100,0) aufwiesen.

Es stellte sich jedoch hierbei heraus, dafs ein Zurückdrängen der Wasserkeime nicht gelang, sie hatten sich von 30 209 in 1 ccm innerhalb 20 Stunden auf 245 291 vermehrt.

Fiel der Peptonzusatz ganz weg, so gingen die Wasserkeime von 73 267 pro 1 ccm in 20 Stunden zwar auf 5770 zurück, jedoch blieb auch eine Vermehrung der Typhusbazillen aus.

Es wurde deshalb versucht, den Peptonkochsalzzusatz nicht gleich, sondern erst 6 1/2, 2 und 1/2 Stunde später zu machen und die Kolben schon vor der Peptonzugabe die entsprechende Zeit im Brutschrank bei 37 ° C zu lassen. Wenn auch in den Versuchen, bei denen Peptonlösung 1/2 Stunde nach Beginn des Versuches erfolgte, eine Vermehrung der Typhusbazillen eintrat, was bei noch späterem Zusatz von Pepton nicht festgestellt werden konnte, so war auf der anderen Seite wiederum ein — wenn auch kleiner — Anstieg der Wasserkeime zu bemerken, welche bei dem späteren Peptonzusatz stark reduziert worden waren.

Ich versuchte nun, da ich auf diesem Wege nicht weiter zu kommen schien, noch eine Spur Karbolsäure (0,03 und 0,01 %) zuzusetzen, indem ich gleichzeitig den Peptongehalt von 1 % auf 2 und 3 % erhöhte, zwar trat auch hierbei eine bedeutend stärkere Vermehrung der Typhusbazillen ein, aber ein Zurückdrängen der Wasserkeime gelang nur unvollkommen, so dafs die Resultate noch nicht befriedigen konnten.

	1 % Pepton	2 % Pepton	3 % Pepton
Typhusaussaat nach 22 Stunden	166 300 494 300	166 300 1 780 537	166 300 2 761 573
Spreewasser nach 22 Stunden	— —	— —	681 959 472 000

Es wurde hierauf die Reaktion geprüft und es zeigte sich, dafs die ganze Lösung stark alkalisch reagierte; jedoch änderte eine Abstufung der stark alkalischen Reaktion durch Zusatz verschieden grofser Mengen einer 5proz. Phosphorsäure oder einer 20proz. Salzsäure nur wenig an dem Ergebnis.

Es war nur noch möglich, durch die Anaerobiose mit und ohne Zusatz von 0,5proz. Traubenzucker bzw. Milchzucker ein noch stärkeres Zurückdrängen der Wasserkeime herbeizuführen, indem gleichzeitig die Lösung nur 12—13 Stunden einwirkte. Die Kolben wurden zunächst mit der Wasserstrahlluftpumpe evakuiert und dann $^1/_2$ Stunde mittels des Kippschen Apparates Wasserstoffgas durchgetrieben.

Typhusbazillen	Aerob	Anaerob
Einsaat	162	162
Nach 12 Stunden	1 796	99
Spreewasser	—	—
Bei Beginn des Versuchs 1,0 ccm	45 490	45 490
Nach 12 Stunden	33 301	4 586

So befriedigend sich die Wasserbakterien an Zahl auch verringert hatten, besonders die verflüssigenden und fluoreszierenden Arten zurückgedrängt waren, so erwies sich das Verfahren doch als unbrauchbar, da die Typhusbakterien sich nicht vermehrt hatten.

Weiter bestand bei dem Zusatz der Peptonlösung, wodurch das Versuchswasser zu einer 3proz. Peptonlösung umgewandelt wurde, noch der Übelstand, dafs ein nicht unbeträchtlicher Bodensatz auftrat, der bei den praktischen Versuchen, die Typhusbazillen aus dem Versuchswasser mittels des Vallet-Schüderschen bzw. Fickerschen Verfahrens oder der biologischen Fällung nachzuweisen, in sehr störender Weise — zumal bei der letzteren Methode — sich geltend machte.

Es wurden deshalb als Ersatz für das Pepton-Witte andere Peptone, Fleischextrakte, Bouillonextrakte und stickstoffhaltige Substanzen geprüft.

Es kamen zur Anwendung:

Roborat,
Mutase,
Pepton Kemmerich,
Dr. Kochs Fleischpepton,
Asparagin,
Nutrose,
Bolero-Bouillonextrakt,
Teston- »
Tassen- »
Buschenthal-Extrakt,
Cibils- »
Kochil- »
Quaglio- »

Ferner ein Hefeautolysat, indem 50 g käufliche Hefe mit 100,0 ccm Aq. destill. steril. drei Tage bei 37 ° C im Brutschrank gehalten, dann filtriert und sterilisiert wurde.

Die besten Resultate wurden mit Pepton Kemmerich und Nutrose erzielt, von denen jedoch der letzteren der Vorzug gegeben wurde, da bei ersterem ein verhältnismäfsig stärkeres Wachstum der Wasserkeime zu beobachten war und ein genaues Abwiegen des Extraktes im Vergleich zu dem Nutrosepulver sich schwerer bewerkstelligen liefs, auch das Sterilisieren des Extraktes, zumal wenn er längere Zeit gestanden, öfters mit Schwierigkeiten verbunden war.

	1% Kemmerich + 0,6% Koffein	1% Nutrose + 0,6% Koffein	1% Kemmerich	1% Nutrose	Ohne Zusatz
1 ccm Spreewasser	36 912 [1])	26 814	36 912 [1])	30 166	33 518
nach 12 Std. 37° .	12 316	5 612	9 324 270	5 725 576	142 672

Aus der Tabelle geht ferner hervor, dafs Wasserkeime ohne Zusatz von Nutrose bzw. Fleischextrakt bei 12 stündigem Verweilen bei 37 ° C, wobei eine grofse Anzahl an die kühleren

1) Der erste Versuch mit P. Kemmerich und dem auch bei der Nutrose verwendeten Wasser war wegen Verunreinigung unbrauchbar und mufste wiederholt werden; deshalb die von den Nutrose-Versuchen abweichende Keimzahl.

Temperaturen des Wassers angepafste Bakterien zugrunde gehen bzw. in ihrer Entwicklung gehemmt werden, ungefähr sich um das Fünffache vermehren.

Es mufste sich nun weiter darum handeln, festzustellen, wie sich Typhusbazillen auf der einen und Wasserbakterien auf der anderen Seite in ein 1proz. Nutroselösung mit entsprechendem Koffein- und Kristallviolettzusatz verhalten. Die Lösungen enthielten 0,5 und 0,6proz. Koffein und 0,001 und 0,002proz. Kristallviolett. Es wurden hiernach 80 ccm Spreewasser mit 10 ccm 10proz. steriler — nicht filtrierter — Nutroselösung 10 bzw. 12 ccm 5proz. steriler Koffeinlösung und 1 bzw. 2 ccm Kristallviolettlösung 0,1/100,0 versetzt und dieselben Zusätze zu 80 ccm sterilem Leitungswasser, geimpft mit Typhusbazillen, gemengt.

	1% Nutrose 0,5% Koffein 0,001% Krist.	1% Nutrose 0,6% Koffein 0,001% Krist.	1% Nutrose 0,5% Koffein 0,002% Krist.	1% Nutrose 0,6% Koffein 0,002% Krist.
Typhusbazillen-Aussaat pro 1 ccm	16	16	16	16
Nach 12 Stunden bei 37° C pro 1 ccm	136	64	129	47
Spreewasser p. 1 ccm	61 953	61 953	61 953	61 953
do. nach 12 Std. bei 37° C.	5 304	1 920	2 280	600

Es trat nach 12 Stunden bei 37° eine Vermehrung bzw. Verringerung ein im Verhältnis von:

bei den Typhusbaz.	1 : 8	1 : 4	1 : 8	1 : 3
bei den Wasserbakt.	11 : 1	32 : 1	27 : 1	100 : 1

Das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Wasserkeimen war (pro 1 ccm):

bei Beginn des Vers.	1 : 3849	1 : 3849	1 : 3849	1 : 3849
nach 12 St. bei 37° C	1 : 39	1 : 30	1 : 17	1 : 13

Hiernach war das numerische Verhältnis der Typhusbazillen zu den Wasserkeimen nach 12 Stunden günstiger geworden:

mal	97	128	226	296

Der folgende Versuch sollte Aufschlufs geben, wie ein Gehalt von 0,55 % an Koffein und 0,001 % bzw. 0,002 % Kristallviolett bei 1 proz. und 2 proz. Nutroselösung Typhus- und Wasserbakterien beeinflufst.

Bei diesen und den folgenden Versuchen wurde nicht mehr von einer 24 stündigen Typhusbouillonkultur ausgegangen, sondern, um den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, von einer 24 stündigen Kultur von Typhusbazillen in sterilem Leitungswasser, welche bei Zimmertemperatur gestanden hatte. — Die Verdünnungstropfflaschen waren ebenfalls mit sterilem Leitungswasser angefüllt. Es handelte sich hiernach um Mikroorganismen, die 24 Stunden lang in einem höchst nährstoffarmen bzw. nährstoffreien Medium verweilt hatten, von denen man also annehmen konnte, dafs sie einigermafsen den in der Wirklichkeit in das Wasser gelangten und dort vegetierenden Typhusindividuen an Lebenskraft und Widerstandsfähigkeit entsprechen.

	1 % Nutrose	2 % Nutrose	1 % Nutrose	2 % Nutrose
	0,55 % Koffein 0,001 % Kristallviolett		0,55 % Koffein 0,002 % Kristallviolett	
Typhusbaz.-Aussaat pro 1 ccm	29	29	29	29
Nach 12 Stunden bei 37°	89	122	84	112
Spreewasser[1]) pro 1 ccm	3536	3094	3536	3094
Nach 12 Stunden bei 37°	354	751	122	150

Es trat hiernach eine Vermehrung bzw. Verminderung ein im Verhältnis von:

bei den Typhusbazillen	1 : 3	1 : 4	1 : 3	1 : 4
bei den Wasserbakterien	10 : 1	4 : 1	30 : 1	20 : 1

Das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Wasserkeimen war:

bei Beginn des Versuchs	1 : 122	1 : 107	1 : 122	1 : 107
nach 12 Stunden bei 37°	1 : 4	1 : 6	1 : 1,5	1 : 1

1) Der Keimgehalt des nicht durch Zusatz der Nutroselösung verdünnten Spreewassers betrug pro 1 ccm 4420.

Das numerische Verhältnis der Typhusbazillen zu den Wasserkeimen war nach 12 Stunden günstiger geworden:

mal	30	17	81	107

Aus dieser Tabelle kann man den Schlufs ziehen, dafs eine 2proz. Nutroselösung sowohl für den Typhusbazillus, wie für die Wasserkeime bessere Resultate gibt, dafs aber der Vorteil sich durch den gleichzeitigen Anstieg der Wasserbakterien fast völlig ausgleicht. Dazu kommt noch, dafs eine 10proz. Lösung der Nutrose erst nach mehrstündigem Kochen erfolgt und darüber hinaus die Nutrose sich nur mit grofsen Schwierigkeiten zur Lösung bringen läfst. Durch den doppelten Zusatz der für die 1proz. Lösung nötigen Menge der 10proz. Nutroselösung wird ferner das Quantum des zu untersuchenden Wassers verringert. So konnten bei den Versuchen mit 2proz. Nutrosegehalt nur 70 ccm Spreewasser, die mit 20 ccm 10proz. Nutroselösung, 11 ccm 5proz. Koffeinlösung und 1 bzw. 2 ccm der 0,1 proz. Kristallviolettlösung versetzt wurden, zur Verwendung gelangen, während bei 1proz. Nutrosegehalt 80 ccm Spreewasser mit 10 ccm der Nutroselösung, 10 ccm der Koffeinlösung u. s. f. benutzt werden konnten.

Aus diesen Gründen erklärt sich auch die verschiedene Keimzahl bei dem Spreewasser mit 1 und 2 % Nutrosegehalt, da bei letzterem durch die stärkere Verdünnung eine Verringerung der Keime pro 1 ccm eintritt.

Da mehr Wert auf eine stärkere Vermehrung der Typhusbazillen, wenn auch bei einer geringeren — aber doch noch sicheren — Zurückdrängung der Wasserbakterien, zu legen war, so gingen wir auf die Lösung von 1 % Nutrose, 0,5 % Koffein und 0,001 % Kristallviolett bei der in 12 Stunden bei 37° ein achtfache Vermehrung der Typhuskeime und ein Zurückgehen der Wasserkeime auf $^1/_{12}$ pro 1 ccm gefunden war, zurück und prüften eine gröfsere Anzahl von Typhusstämmen auf ihr Verhalten in dieser Lösung.

Es kam uns darauf an, nicht nur ältere, sondern auch frisch isolierte, Typhusstämme, von ihrer ersten Agarkultur, unserer Unter-

suchung zu unterwerfen und es zeigte sich, dafs die verschiedenen Stämme sich auch verschieden verhielten. Es wurde, wie schon oben erwähnt, von einer 24stündigen Bouillonkultur eine Kultur in sterilem Leitungswasser angelegt, welche ca. 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten wurde.

Name des Typhusstammes	Tolk [1]	Niedlich [1]	Milz [1]	Gelsenkirchen	Halle
Aussaat pro 1 ccm .	209	87	3 453	211	150
Nach 12 Std. bei 37°	1440	1428	54 302	1090	656
Vermehrung	1 : 7	1 : 16	1 : 15	1 : 5	1 : 4

Name des Typhusstammes	Drigalski [1] Nr. I	Drigalski [1] Nr. II	Drigalski [1] Nr. III	Drigalski [1] Nr. IV	Timm [1]
Aussaat pro 1 ccm .	626	71	68	122	1 800
Nach 12 Std. bei 37°	4332	442	418	538	11 426
Vermehrung	1 : 7	1 : 6	1 : 7	1 : 4	1 : 7

Nachdem somit 10 Typhusstämme die Probe in obiger Nutrose-Koffein-Kristallviolettlösung bestanden hatten und bei Spreewasser mit wechselndem Keimgehalt stets eine beträchtliche Reduzierung der Wasserkeime nachgewiesen worden war, mufste sich die Untersuchung noch auf stark verschmutztes Kanalwasser und Wasser, dem in grofsen Mengen eine Stuhlaufschwemmung beigemischt war, ausdehnen.

Hierzu wurde Sielwasser aus einer Pumpstation Berlins, das eine grauschwarze Farbe, einen fäkulenten Geruch und gröfsere Schmutzpartikelchen suspendiert aufwies, benutzt. Nachdem das Wasser tüchtig auf- und durchgeschüttelt war, erhielt es die Zusätze an Nutrose, Koffein und Kristallviolett und verblieb 12 Stunden im Brutschrank von 37° C.

Der Versuch hatte ein völlig negatives Resultat, indem die Platte trotz genügender Verdünnung überhaupt nicht ausgezählt werden konnte; es war also in diesem Fall eine beträchtliche Vermehrung der Bakterien eingetreten.

1) Frisch isoliert.

Deshalb wurde bei dem zweiten Versuch das Sielwasser nach kräftigem Umschütteln zunächst durch ein gewöhnliches Filtrierpapier filtriert und dann der Versuch wiederholt; dieses Mal mit befriedigendem Erfolg: Die Keimzahl pro 1 ccm war von 13896220 auf die Hälfte 6666970, zurückgegangen.

Ferner wurde Spreewasser (8762 Keime pro 1 ccm) mit einer Stuhlaufschwemmung versetzt, welche 4 Tage gefault hatte, wodurch die Keimzahl pro 1 ccm sich auf 122400 vermehrte. Dieser Flüssigkeit gegenüber versagte die Nutrosekoffeinkristallviolettlösung vollkommen, indem eine beträchtliche Vermehrung zu konstatieren war.

Es mufs deshalb unverhohlen hervorgehoben werden, dafs die Leistungsfähigkeit des Verfahrens hiernach auch ihre Grenzen hat, und dafs es nicht gelingen wird, in dieser Form mit der Methode erfolgreiche Untersuchungen von stark mit Fäkalmassen verunreinigten Wässern auszuführen.

Ferner mufs darauf aufmerksam gemacht werden, dafs sichtbare organische Beimengungen im Wasser wahrscheinlich sowohl von dem Koffein als dem Kristallviolett gewisse Mengen binden, so dafs eine genügende Einwirkung auf die davon zu beeinflussenden Bakterien nicht mehr stattfinden kann.

In letzterem Fall hat, wie angegeben, eine Filtration des Wassers stattzufinden, während bei stark verunreinigten Wassern — vielleicht auch bei Boden- und Schlammuntersuchungen — eine Verdünnung mit sterilem Leitungswasser zu erfolgen hat.

In der bis jetzt beschriebenen Form waren die Zusätze der 10proz. Nutroselösung und der 5proz. Koffeinlösung noch verhältnismäfsig zu voluminös und machten ein Viertel der zu untersuchenden Wassermenge aus, was besonders bei gröfseren Wasserquantis störend war.

Die 10proz. Nutroselösung konnte nur mit grofsen Schwierigkeiten konzentrierter hergestellt werden; dagegen gelang es, 25proz. Koffein zu lösen, was bei ca. 80° eintritt.

Bei dieser Temperatur darf jedoch die Mischung mit der Nutrose nicht erfolgen, da Koffein durch Bindungen von seiten der Nutrose in seiner Wirksamkeit beeinträchtigt werden könnte.

Das Koffein bleibt in dieser Konzentration bei ca. 55—60° in Lösung; man kühlt auf diese Temperatur ab, indem man das Schütteln vermeidet, da durch an die Glaswand verspritzte Tropfen, welche sich bald abkühlen und Koffein auskristallisieren lassen, Koffein der Lösung verloren geht; darauf gießt man die für das entsprechende Quantum Untersuchungswasser nötige Menge Nutroselösung hinzu und kann nun vorsichtig mischen; unter 37° darf sich die Nutrosekoffeinlösung nicht abkühlen, da der Sättigungskoeffizient für Koffein bei 37° nur wenig über 5% liegt.

Zur Ausführung der Untersuchung ist herzustellen (auf 1 l Untersuchungswasser berechnet):

1. eine Lösung von 10 g Nutrose in 80 ccm Aqua destill. sterilis. Nutrose löst sich im kochenden Wasserbad in einigen Stunden; nicht filtrieren; eventueller Wasserverlust — nach Abkühlung — ist zu ersetzen;
2. eine Lösung von 5 g Koffein in 20 ccm Aqua destill. sterilis; die Lösung ist kurz vor der Untersuchung herzustellen und erfolgt leicht bei ca. 80° C. Schütteln und Verspritzen von Tropfen an den Glaswänden ist peinlichst zu vermeiden;
3. eine Lösung von 0,1 g — genau abzuwiegen! — Kristallviolett-Höchst in 100 ccm Aqua destill. sterilis; auf völlige Lösung ist zu achten; stets frisch herzustellen

Ausführung der Untersuchung.

Von dem auf Typhusbazillen zu untersuchenden Wasser füllt man 900 ccm in einen Kolben. Man gießt die Lösung (1) in das Kölbchen mit der Lösung (2) — nicht umgekehrt, da immer von der Koffeinlösung etwas im Kölbchen zurückbleibt, was bei der 25proz. Lösung einen nennenswerten Verlust bedeutet. — Die Koffeinlösung muß vorher auf 55—60° C abgekühlt sein. Vorsichtiges Umschütteln.

Darauf gibt man die Mischung in den Wasserkolben unter ständigem Umschütteln und setzt allmählich unter Umschütteln 10 ccm der Lösung (3) hinzu. Darauf kommt der Kolben für 12—13 Stunden — nicht länger — in den Brutschrank von 37° C.

Nach den angestellten Untersuchungen ist nach dieser Zeit das relative Keimzahlverhältnis der Typhusbazillen zu den Wasserkeimen numerisch für erstere günstiger geworden, und es tritt nunmehr die wichtige und immer noch schwierige Aufgabe an uns heran, die Typhusbazillen in dem Wasserquantum auch nachzuweisen. Leichter ist die Choleradiagnose bei der Choleraanreicherungsflüssigkeit, wo sich die Choleravibrionen wegen ihres starken Sauerstoffbedürfnisses und ihrer meist bedeutenden Eigenbeweglichkeit hauptsächlich an der Oberfläche ansammeln. — Zum Nachweis wurde bisher stets der Drigalski-Conradische Agar benutzt, indem zunächst einige Ösen mit dem Glasspatel ausgestrichen wurden; ferner wurden 500 ccm des zu untersuchenden Wassers zur biologischen Fällung mit Typhusserum — Methode Altschüler, im Verhältnis 1 : 100 — versetzt und noch weitere drei Stunden in dem Brutschrank von 37° C belassen; 500 ccm wurden nach der Fickerschen[1]) chemisch-mechanischen Fällungsmethode verarbeitet. Von dem durch die Fällung entstehenden und dann nach Abgiefsen des Überstehenden wieder aufgelösten Bodensatz wurde unmittelbar 0,2—0,4 ccm, nachdem er mit sterilen Glasperlen tüchtig umgeschüttelt ist, auf eine Serie von 3—4 Drigalski-Conradiplatten ausgestrichen, daraufder Bodensatz um das Drei- bis Vierfache verdünnt und nochmals auf eine Plattenserie ausgestrichen. Es stehen somit vier — bei einigen Versuchen, bei denen auch vor der Anreicherung nach der Fällungsmethode verfahren war, fünf — Plattenserien zur Verfügung, auf denen die typhusverdächtigen Kolonien nach den bekannten modernen Prinzipien — die Agglutinationsfähigkeit hat in nennenswerter Weise nicht gelitten — isoliert werden müssen. Es sei hierbei auf das nicht seltene Vorkommen von Mischkolonien besonders aufmerksam gemacht.

1) Hygien. Rundschau, 1904, Nr. 1, S. 7.

Es gelang, Typhusbazillen nachzuweisen bei einer Verdünnung von:

1. 1 : 6515 Wasserkeimen (900 ccm Spreewasser, 1 ccm = 63744; Typhusbazilleneinsaat 8790);
2. 1 : 7452 Wasserkeimen (180 ccm Spreewasser, 1 ccm = 69974; Typhusbazilleneinsaat 1690);
3. 1 : 1148 Wasserkeimen (180 ccm Spreewasser, 1 ccm = 17685; Typhusbazilleneinsaat 2800);
4. 1 : 51867 Wasserkeimen, vermischt mit Kolibakterien ($1^1/_2$ l Spreewasser, 1 ccm = 63522; Zusatz von 1613028 Koli- und 1872 Typhusbakterien).

Es bedarf noch weiterer Untersuchungen, ob hiermit die äufserste Grenze der Nachweismöglichkeit erreicht ist; wegen der geringen Anzahl der Typhuskolonien bei dem letzten Versuch scheint es der Fall zu sein.

Auf die einzelnen zum Nachweis von Typhusbazillen im Wasser geübten bisher veröffentlichten Methoden näher einzugehen, ist nicht erforderlich, seitdem in dem Kapitel »Typhus« im »Handbuch der pathologischen Mikroorganismen« von Kolle-Wassermann die ganze Literatur erschöpfend behandelt ist, und nachdem Bonhoff die wenigen (6) Befunde positiven Typhusbazillennachweises im Wasser kritisch beleuchtet hat.[1]) Nur über die nach dem Erscheinen obigen Werkes publizierten neueren Methoden einige Worte, soweit diese auf die Frage des quantitativen Typhusbazillennachweises eingehen. Altschüler[2]) vermochte mittels der biologischen Fällung von Typhusbazillen im Wasser durch Typhusserum — das Windelbandt-Schepilewskische Verfahren, auf das Altschüler unabhängig von diesen Autoren gekommen war — Typhuskeime im Verhältnis von 1 : 60000 Flufswasserkeimen (1 l Flufswasser, 1 ccm = 30000 Bakterien, Typhusbazilleneinsaat = 500) nachzuweisen; Altschüler vermutet, dafs »diese Zahlen die Minimalmenge

1) »Wasseruntersuchung und Typhusbazillus«. Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Origin.-Bd. XXXIII, Nr. 6, S. 461.

2) »Eine Typhusanreicherungsmethode.« Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Origin.-Bd. XXXIII, Nr. 9, S. 741.

der nachweisbaren Typhusbazillen sind«, doch hält er zur Beantwortung dieser Frage noch weitere Versuche für nötig.

Eine weitere Arbeit neueren Datums, die sich mit dem Nachweis der Typhusbakterien im Wasser befafst, ist die von Schüder[1]), welcher nach dem Valletschen Prinzip den Nachweis der Eberthschen Bazillen durch chemisch-mechanische Fällung empfiehlt. Die Resultate, die der Autor hiermit erzielt, sind einzig und bisher unerreicht; ihm gelang der Nachweis von Typhusbazillen, nachdem »von einer kleinen mit Kondenswasseraufschwemmung von einer Typhusagarkultur gefüllten Öse $^1/_{100}$, $^1/_{200}$, $^1/_{500}$ und $^1/_{1000}$ (!) derselben je 2 l des zu desinfizierenden Wassers beigemischt wurde. Selbst in den Fällen, wo nur $^1/_{1000}$ dieser Öse 2 l des hunderttausende bis Millionen Keime im Kubikzentimeter enthaltenden Kanalwassers zugemischt war, gelang das Wiederauffinden der Typhusbakterien.«

Da hiernach eine quantitative Bestimmung der eingesäten Typhusbakterien und der Keimgehalt des Versuchswassers pro 1 ccm nicht vorliegt, ist eine Kritik im Vergleich zu unseren Resultaten nicht angebracht.

Weiteres über die Frage des quantitativen Typhusbazillennachweises haben wir in der Literatur nicht finden können.[2])

Nicht ohne Interesse ist es deshalb, anläfslich dieser Frage, sich kurz dem Choleraanreicherungsverfahren, das in der Praxis seine anerkannte Leistungsfähigkeit schon mehrfach glänzend bewiesen, zuzuwenden.

Die grundlegenden Arbeiten von Schottelius, Bujwid, Koch bringen nichts, woraus man ersehen könnte, bis zu welcher Verdünnung der Choleravibrionen mit anderen Begleit- (Fäces- oder Wasser-) Bakterien sich jene durch die Anreicherung mit Peptonwasser noch nachweisen lassen.

Heim schreibt in seiner Arbeit »Zur Technik des Nachweises der Choleravibrionen«[3]), dafs ihm bei einem Zusatz von

1) Zum Nachweis der Typhusbakterien. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 42, S. 317.

2) Die Arbeit von Hagemann »Zum Nachweis von Typhuserregern im Wasser« (Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 743) bringt keine eigenen Resultate.

3) Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XII, S. 353.

30000 Cholerakeimen zu 5 l Leitungswasser — Keimzahl pro 1 ccm nicht angegeben — erst am dritten Tage von dem Oberflächenhäutchen eines Bouillonröhrchens gelungen sei, Cholerakeime zu isolieren. Negativ war jedoch sein Bemühen bei dem Zusatz von 1900 Choleravibrionen zu 5 l Mainwasser — Keimzahl fehlt —, und von 400 Choleravibrionen zu 5 l Leitungswasser — Keimzahl fehlt — durch das Peptonanreicherungsverfahren die Choleraerreger wieder zu isolieren.

Neuerdings ist Hetsch dieser Frage näher getreten und hat für Cholera- und choleraähnliche Vibrionen durch eine grofse Anzahl von Versuchen festgestellt, wann in der Peptonanreicherungsflüssigkeit ein »Überwuchern« der Cholerabakterien durch die »choleraähnlichen« stattfinden kann. Er suchte diese Frage hauptsächlich vom Standpunkte des Praktikers zu beantworten, indem er auf den nach der Anreicherung gegossenen Agarplatten 10, eventuell 20 Kolonien, die choleraverdächtig waren, anstach und die Agglutination ausführte — war unter den 10 bzw. 20 keine echte »Cholera«, so galt das Resultat als negativ.

Da zur Beantwortung dieser Fragen eine Aussaat mit Ösen ausreichend war, bestimmte auch Hetsch nicht durch Plattenaussaat, wieviel echte und wieviel choleraähnliche Vibrionen er in 10 ccm Peptonwasserröhrchen einsäte uud Wasserbakterien wurden nicht der Untersuchung unterworfen.

Es wurde eine Normalöse einer Cholera- und choleraähnlichen Kultur in je 100 ccm sterilen Wassers verteilt und davon je eine Öse in 10 ccm Peptonwasser eingesät; das Verhältnis war also hiernach 1 : 1. Hierbei gelang unter 8 Versuchen stets der Choleranachweis; bei dem Verhältnis von 1 : 3 fiel ein Versuch unter 20 negativ aus, d. h. sämtliche 15 auf Agglutination geprüfte choleraverdächtige Kolonien waren keine Cholera, und man kann wohl annehmen, dafs dem in der Choleradiagnostik erfahrenen Autor keine choleraähnliche Kolonie entgangen ist.

1) Beitrag zur Frage über die Leistungsfähigkeit des Peptonwasser-Anreicherungsverfahrens in der praktischen Choleradiagnostik. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 45, I, 348.

Von besonderem Interesse sind die zahlreichen Versuche, wo zu einer Stuhlaufschwemmung[1]) — Keimzahl nicht angegeben — Cholera- und choleraähnliche Vibrionen im Verhältnis von 1 : 3 zugesetzt wurden. Unter **119** Versuchen gelang es bei **11** nicht, bei der Untersuchung 20 choleraverdächtiger Kolonien die Diagnose »Cholera« zu stellen.

Hiernach dürfen wir wohl mit besonderem Recht gerade für den Typhusbazillus annehmen, dafs seine Anreicherungsmöglichkeit bzw. die Möglichkeit seines Nachweises auch eine begrenzte ist.

Zur Untersuchung von Milch ist das Verfahren in dieser Form nicht geeignet, da alsbald Gerinnung eintritt.

Wie sich die Paratyphusbazillen und ähnliche Bakterien dem Koffein gegenüber verhalten, mufs durch weitere Versuche festgestellt werden; nach den bisherigen scheint eine stärkere Vermehrung nur bei dem Typ. B der Paratyphusbazillen einzutreten, während die Bakterien des Typ. A — wie das B. coli — in ihrer Entwicklung gehemmt werden.

Unserem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Professor Dr. Rubner, sind wir wegen seiner vielseitigen Anregungen und wegen seines andauernden Interesses an dem Fortgang unserer Untersuchungen zu grofsem Danke verpflichtet.

1) 1 ccm dünnflüssiger Kot mit — wie oben angegeben — 10proz. Cholera- und Nichtcholeravibrionen versetzt und in 50 ccm Peptonwasser gebracht.

Experimentelle Studien über den Einflufs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus.

Teil XI. Studien über Phosphorwasserstoff.

Von

Prof. Dr. **Jokote** aus Tokio.

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

I. Einleitung.

Ob die Luft im Freien zuweilen PH_3[1]) enthält, ist zum mindesten fraglich. Auf die Frage, ob es Irrlichter gibt und ob dieselben auf der Entzündung von phosphorhaltigen Gasen beruhen, gehe ich hier nicht ein, weil ich nichts Neues darüber zu sagen habe. In einer besonderen Arbeit werde ich meine Resultate niederlegen, die ich zur Prüfung der Frage angestellt habe, ob es wirklich, wie mehrfach behauptet, möglich sei, bei Fäulnisprozessen wenigstens ein spurweises Auftreten von flüchtigen Phosphorverbindungen zu beobachten.

Im geschlossenen Raum ist eher Gelegenheit gegeben, mit PH_3 in Berührung zu kommen. Im chemischen Laboratorium wird derselbe regelmäfsig zu Demonstrationszwecken, seltener zu Forschungszwecken hergestellt. Beim Arbeiten mit gelbem Phosphor kann PH_3 sehr leicht in kleinen Mengen entstehen, wenigstens

1) Auf die beiden anderen Phosphorwasserstoffe P_2H_4 und P_4H_2 trete ich nicht ein, da der erstere selbstentzündlich, der zweite fest ist und überhaupt nur unter ganz besonderen Umständen entsteht.

wenn man den Autoren glauben darf, welche das Leuchten des Phosphors auf ein intermediäres Entstehen von PH_3 zurückführen. So scheint die Frage nicht unberechtigt, ob PH_3 bei der Phosphorvergiftung der Zündholzarbeiter beteiligt sei. Nachdem die Herstellung der Phosphorzündhölzer verboten ist, hat diese Frage zwar ihr akutes Interesse verloren, dagegen ist in der Acetylenindustrie eine neue Quelle für eine mögliche PH_3-Vergiftung aufgetaucht. Nach Wolff[1]) enthält Acetylengas, aus amerikanischem Kalciumkarbid gemacht, 0,04% PH_3, aus schweizerischem Kalciumkarbid bereitet 0,02%. Lunge und Cederkreutz[2]) fanden im Acetylen 0,03—0,06% Phosphorwasserstoff, Mengen, die, wie wir sehen werden, ernste Bedeutung haben.

2. Die bisherigen Arbeiten über die Giftigkeit des PH_3.

Über die ältere Literatur, die Giftigkeit des PH_3 betreffend, hat Eulenburg in seinem Lehrbuch der schädlichen und giftigen Gase 1865 eine Zusammenstellung gegeben und am gleichen Orte eine Reihe eigener, sorgfältiger, wenn auch nach primitiver Methode angeordneter Versuche mitgeteilt, die jedenfalls ebenso wie die anderen Experimente von Eulenburg das Verdienst beanspruchen dürfen, eine gewisse Orientierung durch Vorversuche auf einem bis dahin wenig bearbeiteten Gebiet gegeben zu haben. Aus Eulenburgs Darstellung rekapituliere ich kurz folgendes: Versuche von Nysten mit Einspritzung gröfserer Mengen (200 ccm) PH_3 in die Venen sind wertlos. Solche Gasmengen töten schon durch Gasembolie. Schucharts Versuche mit Phosphorkalcium, das im Magen brennbares P_2H_4 entwickelt, erscheinen sinnlos und barbarisch.

Viel wertvoller sind Eulenburgs eigene Experimente mit Tieren in einem Kasten aus Holz und Glas von 2071 Kubikzoll Inhalt. Es sind dies wohl nur ca. 55 l, und Kohlensäureintoxikation kompliziert bei länger dauernden Versuchen an gröfseren Tieren

1) Wolff, Uffelmanns hygien. Jahresbericht, Bd. 16, S. 354.

2) Lunge und Cederkreutz, Untersuchungen. Zeitschr. f. angew. Chemie, 1897, 651.

das Bild, doch haben sie orientierenden Wert. Eulenburg fand, dafs eine Katze durch 4,5 ‰ PH_3 in 30 Minuten starb. Eine andere, welche bei 2 ‰ 30 Minuten geweilt hatte, erkrankte, blieb aber noch 2 Tage am Leben. Ein Fink, der 10 Minuten bei 0,2 ‰ geblieben war, starb erst nach vier Wochen.

Dybkowsky[1]) gelangte zu ähnlichen Resultaten wie Eulenburg. Kaninchen starben bei 2,5 bis 5 ‰ in 8 bis 30 Minuten. Nur eines vermochte 72 Minuten zu leben.

Hendersen[2]) sah Kaninchen in 30 Minuten bei 2 ‰ sterben. Endlich starben bei Briliant[3]) Kaninchen bei 5 bis 8 ‰ in 28 Minuten, eine Katze bei 1,9 ‰ in 25 Minuten, niedrigere Dosen wurden nicht versucht.

Alle diese Versuche sind mit relativ sehr grofsen Dosen angestellt. Mit kleinen Dosen hat Schulz[4]) gearbeitet. Er brachte Tiere in eine ventilierte 81 l fassende Glasglocke. Die eingeführte Luft liefs er über Phosphorkalcium streichen und ermittelte nur qualitativ durch Schwärzung von Silbernitratpapier den PH_3-Gehalt in der Glocke. Nach seinen Versuchen starb eine Katze, welche an 2 Tagen im ganzen 10½ Stunden in der giftigen Luft verweilt hatte; ein Hund nach 7 Tagen, der 12½ Stunden im ganzen in der Glocke gewesen war. Kaninchen gingen nach 8 bis 9 Tagen zugrunde. Sie hatten während dieser Zeit zwischen 8 und 12 Stunden im Apparat verweilt. Die Versuche machen den Eindruck einer grofsen Giftigkeit des PH_3, lassen aber keine quantitative Berechnung zu.

Schulz und andere Autoren finden das Kaninchen widerstandsfähiger als die Katze; Henderson die Ratte viel widerstandsfähiger als das Kaninchen. Nach Briliant wäre der Frosch weit widerstandsfähiger wie die Warmblüter. Der Autor sah einen Frosch 60 bis 80 ‰ Gasgehalt 15 Minuten ohne Schaden ertragen.

---

1) Hoppe-Seyler, Med.-chem. Untersuchung, 1866, S. 49.

2) Journal of anatomy and physiologie, XIII, p. 109, ref. in Centralbl. f. d. med. Wochenschr., 1880, S. 285.

3) A. exp. Path. u. Pharm., 1882, S. 432.

4) A. exp. Path. u. Pharm., 1890, S. 314.

Beiläufig sei erwähnt, daſs Dybkowsky ein Kaninchen in 30 Minuten sterben sah, dem er per anum 2 ccm Gas einführte. Briliant leitete 50 ccm PH_3 in den Magen einer Katze, was erst nach 103 Minuten zum Tode führte. Er schlieſst daraus, daſs das Gas von den Respirationswegen aus viel stärker wirke als vom Magen aus.

Die Symptome, welche die Autoren beobachteten, stimmen gut überein.

Die Tiere zeigen anfangs Lecken, wozu wohl der auffallende, knoblauchartige Geruch des Gases beiträgt, später tritt Brechneigung auf, manchmal wirkliches Erbrechen. Das Erbrechen schiebt Schulz auf eine Hirnwirkung, weil er niemals eine Veränderung im Magen bemerkte. Später tritt Atemnot ein, welche allmählich zunimmt, die Tiere halten den Mund geöffnet und bei herausgestreckter Zunge flieſst Speichel ab. Bei subakuter Vergiftung bemerkt man nach Schulz anfangs keine Veränderung; aber an dem Tag, an dem die Tiere sterben, sieht man bei den Katzen mühsame Atmung und Verlangsamung derselben; beim Hund auch Verlangsamung und Vertiefung der Atmung, kurze stoſsweise Ausatmung und starke Dyspnoe kurz vor dem Tod; bei Kaninchen anfangs ungleichmäſsige beschleunigte Atmung und später Verlangsamung. Es treten nun nervöse Symptome auf: die Tiere werden schwach auf den Hinterbeinen, fallen auf die Seite und vermögen endlich sich nicht mehr auf den Beinen zu halten. Gegen das Lebensende tritt Benommenheit auf, die Tiere gehen unter allmählichem Erlöschen der Atmung mit oder ohne Krämpfe zugrunde. Eulenburg und besonders Schulz geben an, daſs an den Tieren von Anfang an ein Zittern und Zusammenschauern beobachtet wird.

Anatomische Veränderungen bei der Sektion sind namentlich an der Lunge gefunden worden. Dieselbe ist sehr blutreich, von Blutergüssen durchsetzt. Schulz hat auch pneumonische Herde gefunden. Die Bronchien sind schmutzig braunrot und von dünnflüssigem Exsudat bedeckt. An den Baucheingeweiden wurde nur etwas Blutreichtum, an Gehirn und Rückenmark keine deutliche Veränderung beobachtet. Nach Eulenburg erscheint

das ausgeflossene Blut wie mit einem zarten Hauch überzogen, unter dem die violettrote Farbe durchschimmert. Bei dünner Schicht ist das Blut violett oder es steht in seiner Farbe zwischen violett und rotbraun. Die Blutkörperchen sind ungleich, eckig und gekerbt gefunden worden. Andere Autoren, z. B. Schulz hat keine Blutveränderung gesehen. Spektroskopisch ist von niemand eine Veränderung angegeben. Die Untersuchungen von Koschlakoff und Popoff[1]) über die Wirkung des PH_3 auf Blut in vitro ist ohne Interesse für uns, weil sie mit grofsen Mengen arbeiteten.

Beschreibungen der Phosphorwasserstoffvergiftung am Menschen gibt es sehr wenige. Eulenburg hat in seinem Buch berichtet, dafs ein Mann, der grofse Mengen einatmete, sofort unter asphyktischen Erscheinungen starb. Dietz[2]) behandelte einen Arbeiter einer Phosphorfabrik, welcher PH_3 eingeatmet hatte. Nach seinem Bericht sind die Hauptsymptome: Angst- und Druckgefühl in der Brust; starke Dispnoe und Erschwerung des Einatmens; brennender und stechender Schmerz an dem Hinterteil des Brustbeins; trockener Husten ohne Blutauswurf; Ohnmachtsanwandlung, Kopfeingenommenheit, dumpfe Kopfschmerzen, Schwindel und Ohrensausen. Nach der wiederholten Selbsterfahrung von Hühnefeld[3]) scheint der Schmerz in der Zwerchfellgegend, welcher nach dem Rücken zieht und das Gefühl von Kälte und Frost das Symptom leichter Vergiftungen mit PH_3 zu sein. Über den Sektionsbefund am Menschen haben wir bis jetzt keine Kenntnis.

Durch die obenerwähnten Literaturangaben haben wir im allgemeinen die Giftwirkung des PH_3 kennen gelernt. Über die Vergiftungssymptome und die anatomischen Veränderungen sind die Beschreibungen der Autoren ziemlich genau; aber für die Frage, welcher PH_3-Gehalt in der Luft an dem Tiere eine Vergiftung hervorruft, sind sie sehr lückenhaft. Die Vergiftungs-

1) Centralbl. f. d. med. Wissenschaft, 5. Jahrg., 403, 1867.

2) Württemb. Corresp.-Blatt, Bd. 22, H. 7, S. 52.

3) Horns, Nasses u. Wagners A. f. med. Erfahrungen, Bd. 56, H. 2, S. 789—794.

symptome und anatomischen Veränderungen genau zu studieren, ist natürlich wichtig; doch ist die Prozentfrage noch wichtiger vom hygienischen Standpunkt aus. Ich habe deswegen diese Frage in den Vordergrund gestellt.

3. Untersuchungsmethode.

Unter den verschiedenen Methoden PH_3 zu bereiten, ist weitaus die bequemste die, welche vom Jodphosphonium ausgeht. Dieser Körper, mit Wasser oder Kalilauge behandelt, zerfällt glatt in PH_3 und Jodwasserstoff. Das Präparat wurde von Merck in kleinen abgewogenen Mengen in Glasröhren eingeschmolzen bezogen. Zur Herstellung eines Luftstromes von bestimmtem PH_3-Gehalt schien es am einfachsten, die Luft durch eine Flasche streichen zu lassen, die mit Kalilauge gefüllt ist und in die eine Lösung von Jodphosphonium in absoluten Alkohol einträufelt. Trotz mehrfacher Modifikationen dieser Versuchsanordnung wollte es nicht gelingen, auf diese Weise einen annähernd gleichmäſsigen Gehalt an PH_3 in der Luft hervorzubringen. Es war daran einmal schuld, daſs sich die alkoholische Lösung von Jodphosphonium mit der Zeit zersetzte und zweitens entstand aus der alkoholischen Jodphosphoniumlösung und Kalilauge offenbar neben PH_3 noch eine in der Kalilauge zurückbleibende Phosphorverbindung, deren Natur nicht näher untersucht wurde. Aber auch die Menge des in Gasform entweichenden Phosphors und die Menge des in der Kalilauge zurückbleibenden Phosphors ergab stets einen niedrigeren Wert, als nach der Menge des verwendeten Jodphosphoniums zu erwarten war.

Ein Beispiel mag dies erläutern. Ich wog 0,9182 g PIH_4 ab und brachte es (natürlich unter dem Abzug) in einen Scheidetrichter, in dem sich 185 ccm absoluten Alkohols befanden. Dabei bemerkte ich das Entweichen eines Gases, das sich sofort entwickelte und dessen Entwicklung sich niemals vermeiden lieſs. Aus dem Scheidetrichter lieſs ich die Lösung tropfenweise in verdünnte Kalilauge einflieſsen, 10 ccm in 10 Minuten, und fing das Gas, das sich dabei entwickelte und das durch einen konstanten Luftstrom aus dem Kolben ausgeblasen wurde, in konzentrierter Salpetersäure auf. Ich machte vier Versuche hintereinander, dreimal mit 40 und einmal mit 65 ccm alkoholischer Lösung und analysierte den Phosphorgehalt der Salpetersäurevorlage jedesmal. Zum Schlusse bestimmte ich noch in der Kalilösung, die im Kolben war, den darin zurückgebliebenen Phosphor. Und endlich leitete ich das

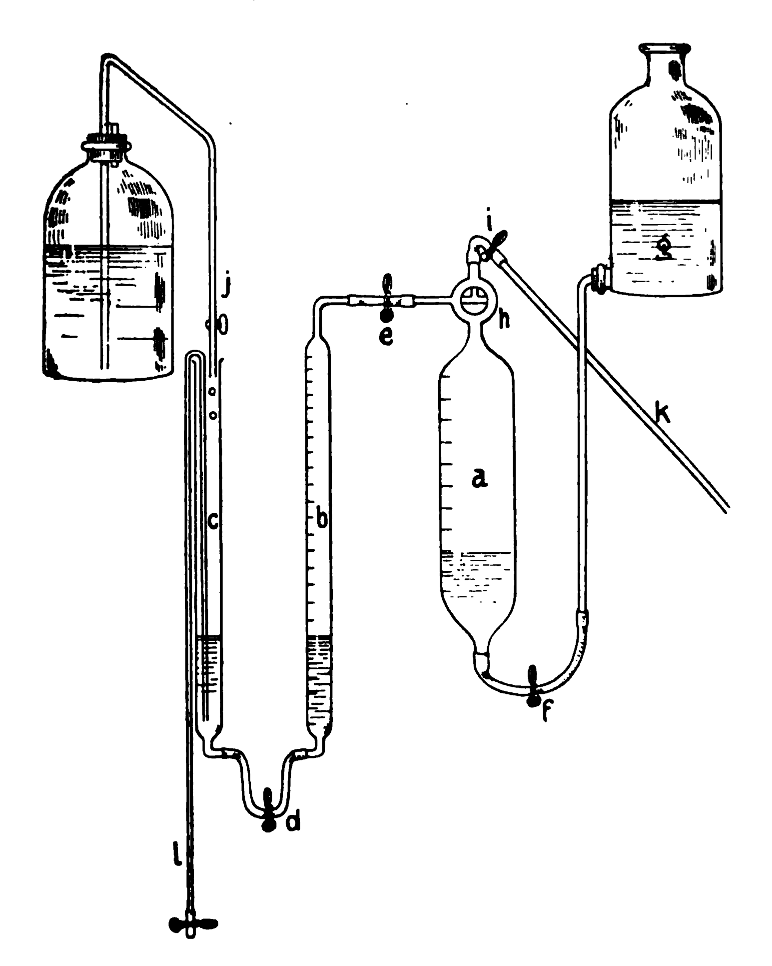
Gas, das in dem scheinbar leeren Scheidetrichter enthalten war, noch durch Salpetersäure und bestimmte auch darin den Phosphorgehalt. Die Resultate stelle ich in einer kleinen Tabelle zusammen:

Versuch	Menge der PJH_4-Lösung	PH_3 im Gas	PH_3 in Kalilauge	Gesamte PH_3
1	40 ccm	0,99 mg (0,25 mg f. 10 ccm)	3,18 mg (0,79 mg f. 10 ccm)	4,17 mg
2	40 »	0,88 » (0,22 » » 10 »)	1,50 » (0,38 » » 10 »)	2,39 »
3	40 »	1,42 » (0,36 » » 10 »)	2,74 » (0,69 » » 10 »)	4,16 »
4	65 »	2,96 » (0,45 » » 10 »)	2,08 » (0,32 » » 10 »)	5,04 »
		6,25 mg	9,50 mg	15,76 mg
5	PH_3 in dem »leeren« Scheidetrichter			15,40 »
				31,16 mg

Die Tabelle lehrt die überraschenden Resultate, dafs erstens die Menge Gas, welche in die Salpetersäure überging, jedesmal aufserordentlich klein war. Zweitens, dafs der Scheidetrichter zum Schlufs eine auffallend grofse Menge PH_3 enthielt. Drittens, dafs in der Kalilauge nicht unerhebliche Mengen einer Phosphorverbindung zurückgeblieben war, und endlich, dafs die Summe des Phosphors, als PH_3 ausgedrückt, nur etwa 8,2% der Menge betrug, welche in dem angewendeten Jodphosphonium enthalten sein mufste. Ich kann mir nur denken, dafs schon bei der Herstellung der Lösung von PJH_4 in Alkohol und später während der Fortdauer des Versuchs PH_3 entwichen ist. Ich habe ähnliche Versuche mit ähnlichen unbefriedigenden Resultaten mehrfach angestellt.

Da auf diese Weise nicht weiter zu kommen war, so gingen wir dazu über, aus Jodphosphonium direkt Phosphorwasserstoffgas herzustellen, dieses in Mefsgefäfsen aufzufangen und dasselbe, nachdem es auf seine Reinheit untersucht war, durch geeignete Vorrichtungen dem Luftstrom zuzuleiten, in dem die Versuchstiere lebten. Im einzelnen verfuhren wir so: In ein kleines trockenes, am einen Ende verschlossenes Glasröhrchen gab ich eine rasch abgewogene Menge Jodphosphonium und schob über sein offenes Ende ein kurzes Gummischlauchstück. In dem Röhrchen waren neben dem Jodphosphonium höchstens noch ½ ccm Luft enthalten. Den Gummischlauch verschlofs ich mit dem Finger, brachte das Röhrchen unter Wasser in einen mit Wasser gefüllten Zylinder und öffnete nun ganz langsam durch Nachlassen des Fingerdrucks den Gummischlauch. Es entwickelte sich sofort lebhaft PH_3, welches dann gleich nachher

in einen geeigneten Aufbewahrungs- oder Dosierungsapparat übergefüllt wurde. In der beifolgenden Zeichnung ist *a* das Aufbewahrungsgefäfs, welches etwa 500 ccm falst, *b* ist ein kalibriertes Mefsrohr, das durch den Schlauch *d* mit dem



nicht eingeteilten Rohre *c* kommuniziert. Um das zuerst mit Wasser gefüllte Aufbewahrungsgefäfs *a* mit PH_3 zu füllen, führt man das enge, mit Wasser gefüllte Rohr *k* in den Zylinder ein, in dem das Gas hergestellt wurde, stellt den Dreiweghahn *h* geeignet ein und senkt die Niveauflasche *g*. Hat man in *a* genügend Gas angesammelt, so wird der Hahn *f* verschlossen

und nun aus *a* in die Meſsröhre *b* durch Öffnen des Quetschhahns *e* und richtige Stellung des Hahnes *h* das Gas durch Senken der Niveauröhre *c* eingesaugt. Hierauf wird der Quetschhahn *e* geschlossen und der Wasserspiegel in *c* und *b* durch Heben von *c* gleichgemacht und das Gasvolum in *b* abgelesen. Auf diese Weise ist ein Volumen von etwa 500 ccm PH_3 für Versuchszwecke bereit.

Es handelt sich nun in erster Linie um die genaue Analyse des Gases in *b*. Hierzu wurde bei *k* ein geeigneter Absorptionsapparat angebracht, dann der Hahn *h* wie in der Zeichnung gestellt, der Quetschhahn *e* und *d* geöffnet und aus der Mariotteschen Flasche in langsamem Tempo Wasser in *c* einflieſsen lassen. Als Absorptionsflüssigkeit für PH_3 verwendeten wir anfangs Silbernitrat. Silbernitrat und PH_3 sollen [1]) nach folgender Gleichung reagieren (Rose):

$$8\,AgNO_3 + PH_3 + 4\,H_2O = 8\,Ag + 8\,HNO_3 + H_3PO_4.$$

Und zwar soll man sowohl durch Titrieren des nicht gefällten Silbers mit Rhodanammonium, als durch Bestimmung der entstandenen Phosphorsäure den Phosphorwasserstoff bestimmen können.

Ich habe — da mir eine Titriermethode sehr erwünscht schien — viel Zeit auf das Studium dieser — wie sich allmählich zeigte — unbrauchbaren Methode verwendet.

In meinen Versuchen drückte ich gewöhnlich 10 ccm meines PH_3, von dem ich annehmen durfte, daſs er wohl annähernd rein sei (später oft kontrolliert), hintereinander durch vier Absorptionsflaschen, deren jede 100 ccm Silberlösung enthielt, von der Stärke 1 ccm Silberlösung = 1 mg Silber. Beim Durchleiten schwärzte sich der Inhalt der ersten und zweiten Flasche stark, der der dritten schwach; die vierte blieb farblos Der Inhalt der drei ersten Flaschen wurde zusammengegossen und in der Dunkelheit fünf- bis sechsmal filtriert, da es schwer war, ein klares Filtrat zu erhalten. Von dem Filtrat wurde ein bestimmter Teil nach Vollhart mit Rhodanammonium titriert. Ich habe eine ganze Reihe solcher Versuche angestellt; stets

1) Bernhard Neumann, Analyse der Gase. Leipzig, 1901, S. 108.

stimmten die mit dem gleichen PH_3 nacheinander gemachten Versuche unter sich sehr befriedigend, stets aber erhielt ich nur etwa 60% der zu erwartenden PH_3 Menge. Auch als ich das abfiltierte Silber untersuchte, fand ich das gleiche Ergebnis. Ich teile einige von meinen zahlreichen Analysen mit:

1. Versuche mit PH_3 (erste Herstellung). Angewendete Gasmenge 10 ccm bei 21° = 9,28 ccm bei 0°. Vorgelegte Silberlösung 300 ccm.

50 ccm Filtrat verbrauchen 12,4 Rhodanammonium. Also enthalten die 300 ccm Silberlösung noch 74,4 mg Silber.

Die PH_3-Menge entspricht also 225,6 mg Silber.

Nach der Gleichung $864:34 = 225,6:x$ finden wir

8,87 mg PH_3;

9,28 ccm PH_3 wiegen aber 14,1 mg,

es sind also nur rund 60,9% der theoretisch zu erwartenden Menge gefunden worden.

Die Versuche zweimal hintereinander mit dem gleichen Gas wiederholt, ergaben statt

9,28 × 1,52 nur 8,91 mg PH_3,

und statt 9,33 × 1,52 » 8,78 mg PH_3,

also eine fast absolute Übereinstimmung der drei Analysen.

2. Die Versuche mit PH_3 (zweite Herstellung) ergaben, in genau der gleichen Weise ausgeführt, statt

9,33 × 1,52 nur 10,2 mg PH_3 und statt

9,55 × 1,52 » 8,83 mg PH_3.

Die Versuche mit PH_3 (dritte Herstellung) ergaben (aus dem in Lösung gebliebenen Silber berechnet) 8,67 mg PH_3 statt 9,38 × 1,52; aus dem Niederschlag durch Tietrierung 8,6 mg und durch Gewichtsanalyse 8,7 mg PH_3.

Ich glaubte, ehe ich die Methode verlieſse, noch einige Versuche mit stärkeren Silberlösungen anstellen zu sollen, doch auch sie waren von keinem befriedigenden Resultat gekrönt.

Ich habe allerdings festgestellt, wie aus der Tabelle I auf S. 285 hervorgeht, daſs stärkere Silberlösungen (5 resp. 10 mg Silber in 1 ccm Lösung) bessere Resultate geben, aber gut waren sie immer noch nicht. So erhielt ich in Versuch 1, 2 und 4 mit 5‰iger Lösung 68,4—87,0 des PH_3 bei Titrierung des Filtrats und 71,7—86,4 bei Titrierung des Rückstandes, wogegen das angewendete Gas nach der Bromabsorptionsmethode 96,8% PH_3 enthält. Auch als ich im 9. Versuch 10 mg Silber pro 1 ccm anwendete, erhielt ich nur 73,7% im Filtrat und 75,1% durch

Tabelle I.

Nr.	Methode		Gasmenge	Absorptionsmittel	Gefundene PH_3 in ‰
1	Zu Flasche	Filtrat titriert	10,5 ccm bei 20° C	200 ccm Silberlösung mit 1000 mg Ag	68,4 %
	geleitet	Rückstand titriert			71,7 »
2	Zu Flasche	Filtrat titriert	11,1 » » 21° »	200 ccm Ag-Lösung mit 1000 mg Ag	78,4 »
	zugeleitet	Rückstand titriert			70,1 »
3	Zu Flasche	Rückstand titriert	10,8 » » 21° »	200 ccm Ag-Lösung mit 1000 mg Ag und	
	geleitet			1000 mg Na-Azet.	75,4 »
4	Zu Flasche	Filtrat titriert	10,8 » » 22° »	200 ccm Ag-Lösung mit 1000 mg Ag	87,0 »
	geleitet	Rückstand titriert			86,4 »
	Volum		49,4 » » 23° »	mit Bromwasser	96,8 »
5	Zu Flasche	Rückstand titriert	11,0 » » 20° »	200 ccm Ag-Lösung mit 1000 mg Ag und	
				800 mg Na-Azet.	84,0 »
	Volum		54,6 » » 21° »	Bromwasser	97,99 »
6	Volum		34,0 » » 20° »	300 ccm Silberlösung mit 1500 mg Ag	98,5 »
		Filtrat titriert			57,4 »
		Rückstand titriert			68,4 »
7	Volum		32,8 » » 23° »	300 ccm Ag-Lösung mit 1500 mg Ag	97,53 »
		Filtrat titriert			74,6 »
		Rückstand titriert			77,7 »
8	Volum		34,0 » » 22° »	300 ccm Ag-Lösung mit 3000 mg Ag	98,54 »
		Filtrat titriert			79,2 »
		Rückstand titriert			84,0 »
9	Zu Flasche	Filtrat titriert	10,2 » » 23° »	200 ccm Ag-Lösung mit 2000 mg Ag	73,7 »
	geleitet				75,1 »

Silberbestimmung im Niederschlag. Zusatz von Natriumazetat, der mir von befreundeter Seite empfohlen wurde, ergab in Versuch 5 auch keine erhebliche Verbesserung der Resultate. In den Versuchen 6—8 verfuhr ich so, dafs ich bei 6 und 7 die Silberlösung wieder 5‰ig, bei 8 10‰ig verwendete und die Lösung diesmal in einen Hempelschen Absorptionsapparat brachte. Die Silberlösung absorbierte das zugegebene Gas etwa zu 98% in trefflicher Übereinstimmung mit den Resultaten der Bromabsorptionsmethode (siehe unten), die ebenfalls zeigte, dafs ein annähernd reiner PH_3 angewendet worden war. Die Vollhardsche Titrierung ergab aber im Versuch 6 aus dem Filtrat 57,4, aus dem Rückstand 68,4%. Im Versuch 7 waren die Werte 74,6 und 77,7%. Etwas günstiger verlief Versuch 8, wo aus dem Filtrat 79,2, aus dem Rückstand 84,0 des verwendeten PH_3 sich berechneten. Aus allen diesen Resultaten ist absolut klar, dafs die Titriermethode, sei es, dafs man das in Lösung gebliebene Silber, sei es, dafs man das Silber im Niederschlag bestimmte, keine brauchbare Methode der PH_3-Bestimmung darstellt. Auch bei Verwendung konzentrierter Silberlösungen läfst sich nicht bewirken, dafs eine glatte Umsetzung nach der Formel

$$8\,AgNO_3 + PH_3 + 4\,H_2O = 8\,Ag + 8\,HNO_3 + PO_4\,H_3$$

stattfindet. Es wird weniger Silber ausgefällt, als diese Formel voraussetzt und offenbar nicht der ganze PH_3 in Phosphorsäure verwandelt. Es liegt der Gedanke nahe, dafs wechselnde Mengen Phosphorsilber (PAg_3) im Niederschlag vorhanden seien. Ich habe deshalb in einigen Versuchen direkt nach der Absorption von PH_3 durch Silberlösung Filtrat und Niederschlag auf Phosphor untersucht und als PH_3 berechnet. Die Untersuchungen sind durch Oxydation mit Brom und durch Fällung mit Magnesiamischung ausgeführt. Die Resultate sind in folgender kleiner Tabelle ausgedrückt:

Nr.	Berührungszeit, d. h. Zeitdauer bis zur Filtration	Wirklich in dem Gasgemisch enthaltener PH_3	Gefunden PH_3 im Filtrat	Gefunden PH_3 im Niederschlag	Gefundene gesamte PH_3
8	14 Stunden	46,5 mg	23,3 mg	20,9 mg	44,2 mg
9	14 Stunden	14,3 »	11,9 »	Spur	ca. 12 mg

Nach Abschlufs dieser Untersuchungen habe ich mich in der Literatur umgesehen, ob denn nicht schon von anderer Seite ähnliche Erfahrungen publiziert sind. Die beste Auskunft fand ich bei Polek und Thümmel (Berliner Berichte, Bd. 16 S. 2442), welche angeben, dafs man in verdünnten Lösungen von Silbernitrat im Anfang schwarzes Phosphorsilber beim Einleiten von PH_3 erhält, und dafs die Flüssigkeit anfangs weder phosphorige Säure, noch Phosphorsäure enthält. Bleibt jedoch, fahren die Autoren fort, der Niederschlag nur kurze Zeit mit der Flüssigkeit in Berührung, so zersetzt er sich, seine Farbe geht in die Graue des reduzierten Silbers über und in der Flüssigkeit nimmt die Menge der Phosphorsäure beständig zu.

Nach dieser Angabe konnte man vermuten, dafs man durch langes Stehenlassen vielleicht eine vollständige Umsetzung des Phosphorsilbers zu Silber und Phosphorsäure erhalte. In den Versuchen, die ich anstellte, ohne etwas von der Arbeit von Poleck und Thümmel zu wissen, habe ich den Niederschlag gewöhnlich 2, 3 Stunden, wenn er sich recht schlecht absetzte auch länger, bis zu 14 Stunden, in der Flüssigkeit gelassen. Leider habe ich über diese Zeiten nichts notiert und kann deswegen nicht sagen, ob die relativ guten Resultate, die ich in einigen Fällen erhielt, wo ich bis zu etwa 85% des PH_3 aus dem Silberniederschlag berechnete, solche sind, bei denen ich besonders lang gewartet habe, bis ich den Niederschlag abfiltrierte. Eigentlich mufs ich sagen, dafs in den Versuchen, die mir die besten Resultate gegeben haben, mit dem stärkeren Silbernitratgehalt die Zeit gewöhnlich kürzer gewesen sein wird, indem ich in diesen Fällen den Niederschlag sehr leicht abfiltrieren konnte. Jedenfalls geht aber auch aus den zitierten Angaben hervor, dafs in ihrer jetzigen Form ein Titrieren von PH_3 mittels Silberlösung sehr unsichere Resultate gibt.

Bei den unbefriedigende Resultaten der Silberabsorption wandte ich mich bald zur Bestimmung des PH_3 mit ziemlich konzentriertem Bromwasser. Durch Bromwasser läfst sich PH_3 mit einer Hempelschen Bürette bei mehrmaligem Hin- und Herleiten des Gases in einigen Stunden vollständig absorbieren

und man kann sehr leicht durch nachträgliche Untersuchung des Broms auf Phosphorsäure kontrollieren, ob sein Phosphorgehalt dem des absorbierten PH_3 entspricht. Die Methode gab mir von Anfang an sehr befriedigende Resultate. Im einzelnen verfuhr ich wie folgt: Ich verwendete, da ein sehr starkes Bromwasser bei einem Vorversuch zu einer Entflammung des PH_3 führte, später stets ein Bromwasser mit 25 g Brom im Liter. Nach der Absorption des PH_3 wurde das Bromwasser gekocht bis zur Farblosigkeit, in einem Teil desselben die Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat gefällt und später in kunstgerechter Weise in phosphorsaure Ammoniakmagnesia verwandelt. In einem anderen Teil wurde sofort die Phosphorsäure mit Magnesiamischung gefällt. Ich teile einige Ergebnisse nach diesen Methoden mit:

Versuch 1.

Verwendet 48 ccm PH_3 bei 16° = 45,3 bei 0°. Nach mehrmaliger Behandlung mit Bromwasser blieben 1,5 ccm Rest. Also enthielt mein PH_3 96,9 % dieses Gases (66,7 mg). Das gekochte Bromwasser wurde auf 500 ccm verdünnt. In 200 ccm fand ich direkt durch Fällung mit Magnesimischung 83,5 mg. Magnesiumpyrophosphat = 25,9 mg PH_3. Daraus berechnet sich für das gesamte Bromwasser 64,7 mg PH_3.

Der Versuch in einer zweiten Portion, bei dem zuerst mit Molybdat gefällt wurde, ergab diesmal aus einem mir unbekannten Grunde ein unbrauchbares Resultat.

Versuch 2.

Es wurden 47 ccm Gas bei 17° = 44,2 ccm bei 0° mit Bromwasser behandelt und 1 ccm Rest gefunden. Also enthält das Gas 97,8 % PH_3 (65,7 mg).

Von dem durch Kochen entfärbten Bromwasser, das auf 500 ccm aufgefüllt war, wurden 200 ccm direkt mit Magnesiamischung behandelt.

Ich erhielt 84,6 mg Pyrophosphat in 200, entsprechend 211,5 mg Magnesiumpyrophosphat in 500 also 64,5 mg PH_3 entsprechend 47 ccm bei 17°.

200 ccm des Bromwassers wurden mit Molybdän gefällt, nach 24 Stunden abfiltriert, das Filtrat der Vorsicht wegen nochmals mit Brom gekocht, das Brom weggekocht und wieder mit Molybdän gefällt, der sehr geringe Niederschlag mit dem ersten Molybdänniederschlag vereinigt und die vereinigten Niederschläge auf kunstgerechte Weise in Magnesiumpyrophosphat verwandelt.

Ich erhielt 86,0 Magnesiumpyrophosphat in 200 ccm, also 215 mg in 500 ccm, also 65,3 mg PH_3 in 47 ccm Gas bei 17°.

Es stimmt also das Resultat der volumetrischen Absorptionsmethode und das der Phosphorsäurebestimmung bei der Brommethode tadellos zusammen und man kann sich derselben überall mit Vorteil zur Bestimmung des PH_3 bedienen, wo derselbe mit Gasen gemischt ist, die durch Brom nicht absorbiert werden; also Luft, Wasserstoff, Sumpfgas u. s. f.

Selbstverständlich ist die Methode unbrauchbar, wenn es sich darum handelt, in Gasgemischen verschiedener Art kleine Mengen PH_3 etwa gar neben Ammoniak, Schwefelwasserstoff u. s. f. zu bestimmen.

Ich verwendete die Methode nur zur Prüfung des von mir angewendeten PH_3 auf Reinheit und hatte die Freude, durchschnittlich einen PH_3 von 98% aus dem Jodphosphonium zu gewinnen.

Anhangsweise erwähne ich, dafs ich auch die Methode von Hempel und Kahl: Absorption des PH_3 durch eine Lösung von 15,6 g Kupfersulfat in 5 ccm $^1/_{20}$ Normalschwefelsäure und 100 ccm destillierten Wassers versucht habe. Das Resultat war gut. In der Tat fand ich in meinem Gas einen Gehalt von 94,6 resp. 98,1% PH_3, was mit den Resultaten der Brommethode stimmt. Auch von der Möglichkeit, durch eine 5‰ige Silbernitratlösung den PH_3 quantitativ zu absorbieren und denselben in der Mischung mit Luft quantitativ zu bestimmen, habe ich mich überzeugt. Ich fand in zwei Analysen 97,5 und 98,5% PH_3 in dem von mir hergestellten Phosphorwasserstoff. Ich glaube, dafs diese beiden Methoden, wenn es sich um die Untersuchung von Gemischen von Luft mit gröfseren Mengen von PH_3 handelt, gute Dienste leisten. Hempel und Kahl haben ihre Methode besonders für die Untersuchung von Azetylengas empfohlen. Einen kleinen Vorteil haben beide Methoden sogar vor der Brommethode. Wenn man den PH_3 mit Bromwasser absorbiert hat, so mufs man eine zeitlang warten, ehe man das Restvolum abliest, weil dasselbe durch etwas Bromdampf verunreinigt ist. Erst wenn dieser verschwunden ist, dürfen wir ablesen. Dagegen hat die Brommethode einen Vorteil vor der Absorption durch Silber und Kupfer. Man kann das Bromwasser

nach Beendigung der volumetrischen Bestimmung durch einfaches Erwärmen von Brom befreien und den gesamten Phosphor als Phosphorsäure in bekannter Weise fällen. Dies ist bei der Kupfer- und Silbermethode nur auf Umwegen möglich.

Nicht nachgeprüft habe ich die Methode von Lunge und Cederkreutz, welche den PH_3 in einer Natrium-Hypochlorit-Lösung absorbierten und als Phosphorsäure bestimmten.

Meine Studien über die Bestimmung des PH_3 haben in meiner Arbeit keine direkte Verwendung gefunden. Denn die Luftgemische, die ich meinen Tieren zumuten konnte, besaſsen einen so kleinen PH_3-Gehalt, daſs eine volumetrische Bestimmung ausgeschlossen war, und daſs auch eine gewichtsanalytische Bestimmung nur bei Anwendung sehr groſser Gasmengen eine befriedigende Genauigkeit versprochen hätte. Ich sah mich deswegen genötigt, den Tieren Gasgemische von bekannter Herstellung zuzuführen und auf eine Analyse derselben zu verzichten.

Methode der Tierversuche.

Bevor ich zu den eigentlichen Versuchen im Respirationsapparat überging, machte ich einige Vorversuche an Mäusen, um mich ungefähr über die Giftigkeit des gefürchteten Gases zu orientieren.

Versuch 1.

Eine Maus von 20 g Körpergewicht wurde in eine Glasglocke von 3700 ccm gesetzt und durch einen Tubus am oberen Ende der Glocke 2 ccm PH_3 zugeleitet. Gehalt 0,54 pro Mille. Leichte Aufregung, nach 10 Minuten Bewegungen unsicher, nach 15 Minuten Bauchlage, Augen halbgeschlossen, nach 20 Minuten 58 Atemzüge, nach 25 Minuten 31, nach 30 Minuten 22 nach 32 Minuten ein leichter Krampfanfall, nach 33 Minuten Seitenlage, nach 35 Minuten tot. Die Sektion ergab nichts auſser vermehrtem Blutgehalt der Lunge, Leber, Niere und Milz; groſse Venen ebenfalls stark gefüllt. Verhalten des Blutes normal.

Versuch 2.

Eine Maus kam in die gleiche Glocke bei 0,27 pro Mille PH_3. Anfangs Unruhe, friſst an dem Fett der Dichtung. Nach 35 Minuten ruhig, nach 45 Minuten Bauchlage, Respiration sinkt von anfangs 120 nach 53 Minuten auf 86, nach 60 Minuten auf 68, nach 65 Minuten auf 48, nach 40 Minuten auf 30, nach 115 Minuten auf 14. Nach 140 Minuten wurde das ziemlich

bewufstlos scheinende Tier, das starken Exophtalmus zeigte, aus der Glocke genommen, es starb eine Stunde später ohne Krampf mit dem gleichen Sektionsbefund wie das erste.

Selbstverständlich überzeugte ich mich durch Kontrollversuche, dafs selbst ein $2^1/_2$ stündiger Aufenthalt unter der geschlossenen Glocke ohne PH_3 Mäuse höchstens etwas ruhiger macht, sie aber sonst nicht schädigt. Nach dem Verlassen der Glocke sind sie sofort wieder ganz munter.

Zu allen mafsgebenden Tierversuchen diente mir die von Herrn Professor Lehmann dem Voitschen Respirationsapparat nachgebildete Vorrichtung. Die Tiere weilen frei in einem geräumigen Glaskasten, den ein Frischluftstrom durchzieht. Mit Hilfe des oben abgebildeten Apparates war es leicht, dem Frischluftstrom kleine Mengen PH_3 beizumischen. Ich liefs zu diesem Zweck einfach, nachdem die Hähne in geeigneter Weise gestellt waren, aus der Mariotteschen Flasche in schwachem oder sehr schwachem Tropfenfall Wasser in den offenen Schenkel *c* fallen.

Die Mischung der Giftluft und Frischluft nahm ich — wie dies Herr Prof. Lehmann früher auch oft getan hat — nicht im Kasten, sondern in einer Wulfschen Flasche vor dem Kasten vor.

Bei der aufserordentlichen Giftigkeit des PH_3 erwies es sich bald als zweckmäfsig, denselben nicht rein zu verwenden und abzumessen, sondern ihn fünf- bis zehnfach mit reinstem Wasserstoff zu verdünnen. Selbstverständlich war der Wasserstoff aus arsenfreiem Zink hergestellt und durch Passieren von Kaliumpermanganat, alkalischer Pyrogallussäurelösung, Silbernitrat und Wasser gereinigt. Zu den Versuchen wurden meist Katzen, aufserdem einige Kaninchen und Ratten verwendet.

Bei den Versuchen[1]) schien es mir von besonderem Interesse zu sein, schwache Dosen zu untersuchen und dieselben lange

1) Herrn Prof. Lehmann kamen Bedenken, ob nicht durch Diffusionsprozesse die Konstanz des Gehaltes gestört sei. Man konnte vermuten, dafs nach Öffnung des Hahnes des PH_3-Gefäfses (*a*) anfänglich durch Diffusion durch *k* der PH_3-Gehalt in der Mischflasche und dem Reinluftstrom erhöht mit allmählicher Entleerung des PH_3-Gefäfses dagegen unter dem Durch-

Zeit einwirken zu lassen. Scheint doch am leichtesten Gelegenheit zu einer PH_3-Vergiftung dadurch gegeben zu sein, daſs sehr kleine Mengen dieses Gases längere Zeit einwirken.

Nur für einige wenige Versuche mit starken Dosen kehrte ich zu der Versuchsanordnung im geschlossenen Raum zurück, um möglichst wenig Phosphorwasserstoff zu verbrauchen. Ich überzeugte mich zunächst, daſs eine Katze, ein Kaninchen und ein Frosch zusammen in den nicht ventilierten Glaskasten gebracht, in $^1/_2$ Stunde keine andere Störung zeigten als etwas vermehrte Respiration. Dann leitete ich Mengen von 0,4 resp. 0,6 ‰ PH_3 Gas zu, beobachtete dabei aber zwei Vorsichtsmaſsregeln: 1. Ich brachte die Tiere in die von der Einleitungsstelle abgekehrte Hälfte des Versuchskastens und schloſs sie von der Einleitungshälfte durch einen perforierten Glasschieber ab. 2. Ich konstruierte mir eine einfache Luftmischvorrichtung, mittels der ich die Luft in der Einleitungshälfte (Vorkammer) mit dem giftigen Gase mischte, ehe sie zu den Tieren gelangte.

(Siehe Tabellen II und III auf S. 294—300.)

Anhang. Ich will hier kurz erwähnen, daſs ich die Giftwirkung des Phosphorwasserstoffs auch an Ratten und Fröschen beobachtet habe. Bei den Ratten wurde eine in der giftigen Luft, welche anfangs 0,1 ‰, später 0,2 ‰ Gift enthielt, nach 3 Stunden 55 Minuten, und die andere in der von 0,15 ‰ Gasgehalt nach vier Stunden getötet. Die Vergiftungserscheinungen sind Unruhe, Dyspnoe und Zuckungen. Hyperämie der Leber und Niere.

Die beiden Frösche vertrugen ohne Schaden, der eine 15 Minuten 0,6 ‰, der andere 0,4 ‰ 30 Minuten, weitere Dosen sind nicht versucht worden.

---

schnitt vermindert sei. In zwei Versuchen untersuchte ich deshalb nach frischer Füllung des PH_3-Zylinders seinen Inhalt und wiederholte die Untersuchung an dem Rückstand der in einem solchen Zylinder nach 1 stündiger resp. $1^1/_2$ stündiger Versuchsdauer übrig war. Ich fand zu meiner Freude beide Male fast absolut gleiche Zahlen und kann deswegen versichern, daſs die Diffusion meine Versuche nicht in ihrer Genauigkeit beeinfluſst hat.

Zusammenfassung.

Die mitgeteilten Tatsachen fasse ich zum Schlusse kurz zusammen und benutze sie zu einigen kritischen Bemerkungen über die in der Literatur vorhandenen Angaben.

Aus den Angaben der Literatur, namentlich von Schulz, ging hervor, dafs Phosphorwasserstoff offenbar sehr giftig ist, aber es fehlen bei ihm quantitative Angaben, was ja vom toxikologischen Standpunkt aus kein grofser Mangel ist, die hygienische Benutzung der Arbeit aber entschieden stört.

Durch meine Arbeit ist nun festgestellt, dafs PH_3 schon in der kolossalen Verdünnung von 1 auf 100000 auf die Tiere tödlich wirkt, wenn sie darin 16—30 Stunden verweilen. Diese Zeit kann sich auf mehrere Tage verteilen. 2,5 auf 100000 hat schon in $8^1/_2$—12 Stunden tödlich gewirkt, obwohl auch diese Zeit von Pausen unterbrochen war, in denen die Tiere in reiner Luft waren. Bei der Dosis 1 auf 10000 genügen schon $2^1/_2$—$3^1/_2$ Stunden, um die Tiere zu töten. Mit weiterer Steigerung der Giftkonzentration nimmt die Lebensdauer der Tiere weiter ab. Dabei sind die von mir mitgeteilten Zahlen Maximalwerte. Es ist nicht unwahrscheinlich, dafs in Wirklichkeit der Gehalt der Luft noch geringer war, durch Absorption im Kasten und im Pelz des Tieres. Solche minimale Phosphorwasserstoffmengen können sehr leicht in chemischen Betrieben zur Wirkung kommen. Meine Feststellungen sind also von hygienischem Interesse. Hierfür ein Beispiel.

Wie in der Einleitung gesagt ist, enthält Acetylengas ziemlich grofse Mengen PH_3; nach Lunge 0,061 %. Da Rosemann Acetylen ziemlich schwach giftig fand — Katzen wurden durch 15—20% Acetylen erst in $^1/_2$ Stunde getötet — so ist sehr wohl daran zu denken, dafs bei einer Acetylenvergiftung der Praxis eine Phosphorwasserstoffvergiftung beteiligt sein kann. Einem Azetylengehalt von 20% entspräche ein Phosphorwasserstoffgehalt von 0,12 ‰, einem Azetylengehalt von 1,7 % noch 0,01 ‰ PH_3, was schon eine ziemlich bedenkliche Dosis ist. Es ist also bei

(Fortsetzung des Textes auf S. 301.)

Tabelle II. (Katzen.)

Nr.	Gewicht	Versuchs-anordnung	Gehalt	Dauer des Aufenthalts	Tod nach Versuchsbeginn	Symptome	Sektionsbefund
1	Katze 2560 g	Ohne Ventilation	0,6 ‰	15 Min.	—	Tier anfangs unruhig, bald ruhig. Respiration nach 6 Min. etwas tief, 34, nach 12 Min. 32. Das Tier ist beim Verlassen des Kastens etwas angegriffen und erbricht $^1/_2$ Std. darauf gelbflüssige Masse. Am nächsten Tag war das Tier krank, etwas angegriffen; am 3. Tag fast gesund und von lebhaftem Appetit. Das Tier erholt sich.	—
2	Katze 2620 g	Ohne Ventilation	0,4 ‰	30 Min.	55 Min.	Das Tier verhielt sich von Anfang an ruhig; Haare etwas gesträubt. Lecken. Schon sehr bald macht das Tier einen sehr angegriffenen Eindruck; Brechneigung. Nach 15 Min. 26 oberflächliche Respir.; in der folgenden Viertelstd. tritt deutliche Atemnot ein. Speichelflufs; Harn- und Kotentleerung; nach $^1/_2$ Std. aus dem Kasten entfernt. Das herausgenommene Tier zeigt unsicheren Gang, legt sich mit gestreckten Extremitäten auf den Rücken; schreit. Respir. geräuschvoll, Mund offen. 25 Min. nach dem Herausnehmen tritt unter leichten Zuckungen in Gesicht- u. Beinmuskulatur der Tod ein.	5 Std. nach dem Tod. Herz enthält nicht geronnenes Blut; Lunge nicht sehr blutreich, aber an einigen Stellen kleinere Hyperämien; Trachea mit Schleim bedeckt; Leber derb aber nicht sehr blutreich; Milz normal; Niere blutreich; Blut zeigt mikroskopisch und spektroskopisch keine Veränderung. Leichenstarre stark.
3	Katze 2815 g	Mit Ventilation	Zuerst 2h lang 0,1 ‰ dann 1h 45 M. 0,2 ‰	3 Std. 45 Min.	3 Std. 45 Min.	In der 2. Std. bei 0,1 ‰ zeigte das Tier keine nennenswerten Krankheitssymptome. Nur etwas Lecken, Gähnen und leichte Unruhe. Nachdem 1 Std. lang 0,2 ‰ zugeleitet waren, tritt Erbrechen, Absonderung von schleimigem Speichel u. oberflächliche Atemnot ein. 3 Std. 20 Min. nach Versuchsbeginn Harn- und Kotentleerung; wiederholte Brechbewegung; äufserst ängstliches Schwanken; Gang unsicher, Zittern des Körpers, leichte Zuckungen im Gesicht. Nach 3 Std. 40 Min., Tier liegt offenbar bewufstlos auf dem Boden; 5 Min. später einige tiefe Atemzüge; tot.	$3^1/_2$ Std. nach dem Tode. Totenstarre deutlich; Lunge blutreich, hie und da hypostatische kleine Blutungsherde; Trachea hyperämisch, Leber und Niere blutreich; Milz normal; Hirn u. Rückenmark normal; Blut mikroskopisch, spektroskopisch und makroskopisch keine Veränderung.

4	Katze 4000 g	Ventilierte Luft	0,15 ‰	2 Std. 40 Min.	2 Std. 40 Min.	Anfangs etwas unruhig; nach 1 Std. leicht krank; schreit ein wenig; liegt ruhig da. Nach 2 Std. leichte Atembeschwerden; Schleim- u. Speichelausflufs aus dem geöffneten Mund. Die Atemnot nimmt zu. Respir. oberflächlich 175. Tier macht einen leidenden, ängstlichen Eindruck. Nach 2 Std. 30 Min. Tier sehr ruhig, liegt, die Pupille erweitert sich; nach 2 Std. 40 Min. einige tiefe Atemzüge; Tod ohne Krampf.	Sektionsbefund in der 3. Std. nach dem Tod. Leichenstarre hochgradig; beide Lungen voluminös aufgetrieben; einige kleine hämorrhag. Stellen an der Oberfläche; link. Unterlappen ist verwachsen m. Pleur. cost.; beide Unterlappen derb, hypostatisch und ödematös. Trachea hyperämisch u. mit Schleim bedeckt; Leber blutreich; Niere u. Milz normal; Venen blutreich; Hirn u. Rückenmark normal; Blut etwas geronn., mikroskop., spektroskop. und makroskop. normal.
5	Katze 3015 g	Ventilierte Luft	0,05 ‰	1 Std. 45 Min.	Ungefähr 4 od. 5 Std.	Anfangs ziemlich wohl; nach 1 Std. Erbrechen; Schleimausflufs aus d. Mund; Respiration oberflächlich; nach $1^1/_2$ Std. Respir. 100, Seitenlage, Jammern. Nach 1 Std. 45 Min. Tier wird in halbbenommenem Zustand aus dem Kasten genommen; Pupillenreaktion träge; erholt sich langsam. Am andern Morgen tot.	Sektionsbefund ca. 40 Std. nach d. Tode. Leichenstarre deutl.; Unterhautgewebe trocken; Lunge blutarm; nur rechter Unterlappen derb, voluminös u. dunkelrot und ödematös; Leber derb; Niere blutarm; Milz normal; Blut wenig geronnen; mikroskopisch, spektroskopisch und makroskopisch keine Veränderung.
6	Katze ca. 3190 g	Ventilierte Luft	0,1 ‰	3 Std. 28 Min. mit 2 Pausen, also 1,10; 1,5 u. 1,13 Min.	Etwa 12 Std.	Von Anfang bis zum Ende des Versuchs sehr ruhig. Nach 25 Min. schien sie sehr elend; bei der zweiten Einsetzung in das giftige Gas fand man die Haare stark gesträubt; bei dem dritten Versuch geriet sie in starke Atemnot. Beim Verlassen des Kastens war das Bewufstsein noch vorhanden; am andern Morgen fand ich sie als Leiche. Was die Atmung betrifft, ist folgendes zu bemerken: Vor dem Versuch 31—34 pro Min. und mäfsig tief; beim 1. Versuch 26—30 pro Min. und etwas tiefer als vorher; in der ersten Pause 28; beim 2. Versuch 24—30 und ebenso tief wie im 1. Versuch. In der zweiten Pause 25—32 und bezüglich des Typus keine Veränderung. Bei dem 3. Versuch Anfang 27 und tief, dasselbe; aber später (nach 1 Std.) grofse Dyspnoe; Atemzahl dabei 136; Respirat. sehr oberflächlich.	Sektionsbefund etwa 12 Std. nach dem Tode. Leichenstarre deutlich; beide Lungen blutreich und etwas ödematös. Trachea und Bronchien hyperämisch und mit Schleim bedeckt. Leber derb und blutreich; Niere blutreich. Blut makroskopisch, mikroskop. u. spektroskopisch keine Veränderung.

Fortsetzung zu Tabelle II. (Katzen.)

Nr.	Gewicht	Versuchs-anordnung	Gehalt	Dauer des Aufenthalts	Tod nach Versuchsbeginn	Symptome	Sektionsbefund
7	Katze 4180 g	Ventilierte Luft	0,025 ‰	Am 1. Tag mit Pause 2 mal (1½ Std. u. 2½ Std.), am 2. Tag 2 mal (1½ u. 3 Std.), am 3. Tag 2 mal (1½ u. 1 Std.), im ganzen 10 Std. 40 Min.	53 Std. 15 Min.	Am 1. Tag war die Katze morgens 1½ Std., mittags 2½ Std. im Kasten. Sehr ruhig; Respir. schwankt zwischen 17 u. 18 (oft gezählt). Beim Herausnehmen schien das Tier leicht krank, frafs nicht. Am 2. Tag war das Tier morgens und mittags im Kasten. Respir. 16—17; liegt meist ganz ruhig mit dem Kopf auf dem Boden und scheint leicht krank zu sein Frifst nach dem Verlassen des Kastens nicht Am 3. Tag war das Tier morgens u. mittags im Kasten, Zustand wie den Tag zuvor. 2 Std. nach dem Herausnehmen am Mittag war das Tier fast bewufstlos, konnte nicht mehr stehen; besonders die Vorderbeine schienen gelähmt. Schmerzempfindung herabgesetzt. Corneareflex erhalten. Aus dem Mund flofs Schleim, dessen Herausbeförderung schwierig ist. Atemzahl 20. Nach 1½ Stunden stirbt das Tier ohne Krampf.	In der ersten Viertelstunde nach dem Tode fehlt die Leichenstarre; Lunge blutreich, an der Oberfläche einige stecknadelkopfgrofse rote Flecke (Blutung?). Leber derb und etwas gelblich; Niere blutarm, etwas gelblich; Milz normal. Blut dunkelrot, nicht geronnen; spektroskopisch, mikroskopisch und makroskopisch keine besondere Veränderung.
8	Katze 2290 g	Ventilierte Luft	0,025 ‰	Am 1. Tag 2½ St., am 2. Tg. 1½ St., am 3. Tg. 1½ St. lang, im ganzen 5 St. 10 Min.	—	Am 1. Tag zeigte das Tier nach 1 Std. nur etwas Trägheit. Nach 2½ Std. leichtes Kranksein; doch frifst es nach dem Herauslassen. Respiration sinkt während des Versuchs von 28 auf 16. Am 2. Tag war das Tier morgens sehr munter; im Kasten verhielt es sich ziemlich normal und war abends nach dem Verlassen des Kastens wieder munter. Auch am 3. Tage war das Befinden ebenso. Das Tier blieb nachher vollständig gesund	—

9	Katze 4180 g	Ventilierte Luft	0,025 ‰	Am 1. Tag 4 Std. mit 1¾ Std. Pause; am 5. Tag 4 Std. 10 Min. mit 3¼ Std. Pause; am 9. Tag 4 Std. lang, **im ganzen 12 Std. 10 Min.** An den dazwischen gelegenen Tagen keine Giftaufnahme. Das Tier verweilt aber täglich 3—6 Std. in dem ventilierten Kasten.	12 Tage 1 Std. 20 Min.	Am ersten Tag anfangs keine Veränderung; das Tier schläft, nach 1 Std. etwas Lecken. Nach 2 Std. etwas matt. Nachmittags etwa der gleiche Zustand. Viel Schlaf. Nach dem Verlassen des Kastens munter. Appetit gut. Am 2., 3. und 4. Tag kein Versuch, Tier gesund; Appetit gut. Am 5. Tag Symptome etwa wie am 1. Tag. Nach dem Versuch bald wohl. Am 6., 7. und 8. Tag keine Gaseinatmung; Tier gesund. Am 9. Tag kommt das Tier nur Nachmittag in den Kasten. Die erste Stunde ist ziemlich normal, es schläft meist ruhig. Dann aber treten Krankheitssymptome auf, das Tier sieht sehr matt und elend aus und schläft nicht mehr. Gegen Ende des Versuchs schien das Tier schwer krank, Atmung erschwert. Mattigkeit. Am 10., 11., 12. und 13 Tag atmet das Tier kein Gift. Es ist während der ganzen Zeit matt, frifst gar nichts; der Pelz ist gesträubt; Gang unsicher. Am 13. Tag frifst es eine Kleinigkeit, schreit, liegt meist auf dem Bauch oder der Seite. Es treten wiederholt leichtere und stärkere, wahrscheinlich klonische Krämpfe auf, das Tier wird bewufstlos, die Pupille ist weit, Speichel fliefst aus dem Mund. Unter leichten Greifbewegungen liegt das Tier noch längere Zeit da und verendet schliefslich in einem tonischen Krampf. — Atmung. Am 1. Tag. Vor dem Versuch 24—26 pro Min. und mäfsig tief; bei dem Versuch am Vormittag anfangs 24—26 pro Min. und mäfsig tief; aber am Ende des Versuchs 38 und etwas oberflächlich. Im Versuch des Nachmittags 24—26 und mäfsig tief. In der Pause vom 2. bis 4. Tage schwankte die Respiration um 24 und mäfsig tief. An dem 5. Tage (2. Versuchstag): Vor dem Versuch 26—30; beim Vormittagsversuch in Bauchlage 24—30 und mäfsig tief und im Sitzen 32—40 und etwas oberflächlich. In der Pause am 6 bis 8. Tage wieder um 24. Am 9. Tage (3. Versuchstag): Vormittag vor dem Versuch 21, etwas tiefer. Im Versuch war die Respiration am Anfang beim Schlafen 20—24, beim Erwachen 22—30 und mäfsig tief; nach 3½ Std. 36 und mäfsig tief, doch steigerte sich die Atmung nach und nach auf 90 pro Min. und wurde sehr oberflächlich; am 10. Tage 26—50. Auf Zeiten langsamer und tiefer Atmung kamen Zeiten frequenter, oberflächlicher Atmung. Bei der raschen Atmung erschien heute und an den folgenden Tagen die Exspiration besonders beschleunigt. Am 11. Tage: Dyspnoe steigerte sich, Atmung schwankt um 60 pro Min.; oberflächlich. Am 12. Tage: Dyspnoe stark; Respiration 60—86; oberflächlich. Am 13. Tage überhaupt Atmung ganz oberflächlich und Frequenz wechselnd, sie schwankte von 60, 62, 120, 70, 72, 133 usw. Am Ende atmete das Tier vor dem Krampfanfall sehr rasch und nach demselben (16 pro Min. und oberflächlich) sehr langsam. Kurz vor dem Tod einige tiefe Inspirationen mit ängstlicher Miene und offenem Mund.	Sektion etwa 4 Std. nach dem Tode. Totenstarre nicht deutlich. In beiden Pleurahöhlen grofse Mengen von etwas gelblichklarer eiweifshaltiger Flüssigkeit (Pleuritis). Lunge komplimiert; einige hypostatische Stellen, besonders im linken oberen Lappen mäfsig blutreich. Trachea hyperämisch, mit Schleim bedeckt. Herzmuskel scheint normal. In der Peritonealhöhle grünlich gelbliches eiweifshaltiges Exsudat. Leber derb blutreich, an der Oberfläche hie und da gelbe Flecken. Niere mäfsig blutreich; die Venen injiziert; Schnittfläche gelblich, besonders die Rindensubstanz. Blut makro-, mikro- und spektroskopisch zeigt keine auffallende Veränderung.

Fortsetzung zu Tabelle II. (Katzen.)

Nr.	Gewicht	Versuchsanordnung	Gehalt	Dauer des Aufenthalts	Tod nach Versuchsbeginn	Symptome	Sektionsbefund
10	Katze 2620 g	Ventilierte Luft	0,01 ‰	Am 1. Tag $7^1/_2$ Std., am 2. Tag 9 Std., am 3. Tag $4^3/_4$ Std. mit 2 Pausen, am 4. Tag 8 Std., im ganzen 29 Std. 5 Min. lang	78 Std.	Am 1. Tag keine nennenswerten Symptome, ruhig; Respir. nur einmal gezählt 23. Gegen Ende des Versuchs schien sie leicht krank. Am 2. Tag schien das Tier elend, sehr ruhig, die Haare etwas gesträubt. Respir. nach 4 Std. 25, nach 9 Std. 38. Der Krankheitszustand hatte unzweifelhaft zugenommen; es fraſs noch etwas beim Verlassen des Käfigs. Am 3. Tag war das Tier schon nach kurzem Aufenthalt recht elend, matt, obwohl es morgens frisch geschienen hatte. Respir. 25. Am Nachmittag ungefähr das gleiche Bild. Am 4. Tag: Das Tier erbricht nachmittags zum erstenmal und es bildet sich nun, nachdem sie an diesem Tag $6^1/_2$ Stunden im Kasten gewesen ist, allmählich steigende Atemnot aus. Die Respiration steigt 42, 44, 67. Nach $6^1/_2$ Std. Kotentleerung, Versuch eine Stellung zu finden, welche ihr ein möglichst bequemes Atmen gestattet. Atmung abwechselnd mehr oder weniger tief, jetzt aber stets rascher. Nach $6^3/_4$ Std. werden 160 oberflächliche Atemzüge gezählt. Nach 6 Std. 55 Min. läſst die Respir. nach; die Atemzüge werden seltener. Ab und zu eine tiefe Respir. Nach 7 Std. tot.	Sektion $^1/_2$ Std. nach dem Tod. Leichenstarre nicht vorhanden; Unterhautgewebe trocken; Lunge: luftarm, Blutgehalt mäſsig, im linken Unterlappen einige kleine Blutungen; Bronchien mit etwas Schleim bedeckt; Leber, Niere und Milz normal; Harn enthält kein Blut; Blut zeigt spektroskopisch keine Veränderung, mikroskopisch fand ich zahlreiche kleine lichtbrechende Kügelchen in den roten Blutkörperchen, ein Befund, den ich später nicht wieder erhielt. Herzmuskel normal.

Tabelle III. **(Kaninchen.)**

Nr.	Gewicht	Versuchsanordnung	Gehalt	Dauer des Aufenthalts	Tod nach Versuchsbeginn	Symptome	Sektionsbefund
1	Kaninchen 1040 g	Ohne Ventilation	0,6 ‰	15 Min.		Tier anfangs unruhig; bald deutliche Atemnot (Resp. oberflächl.). Nach 6 Min. werden 120, nach 12 Min. über 200 Respirationen gezählt. Am nächsten Tag ganz gesund.	
2	Kaninchen 1400 g	Ohne Ventilation	0,4 ‰	30 Min.	50 Min.	Anfangs sehr unruhig, nach 15 Min. ruhig. Nach 25 Min. starke Dyspnoe (oberflächlich). Das nach 30 Min. herausgenommene Tier kann nicht mehr stehen, fällt in Bauch- und Seitenlage und erscheint benommen. 5 Min. nach dem Herausnehmen leichte Konvulsion, $1/4$ Std. später tot.	Sektion $4^1/_2$ Std. nach dem Tod. Leichenstarre mäfsig; Herz mit etwas geronnenem Blut; Lunge blutarm. Schnittfläche der linken Lunge zeigte das Aussehen wie Fleisch. Trachea nicht besonders verändert; Leber derb mit Coccidienherden; Milz klein. Niere blutreich; Blut zeigt spektroskopisch, mikroskopisch u. makroskopisch keine auffallende Veränderungen.
3	Kaninchen 1955 g	Ventilation	Anfangs 2 Std. lang 0,1 ‰ später 0,2 ‰	2 Std. 45 Min.	2 Std. 45 Min.	Anfangs etwas unruhig, bald sehr ruhig. 45 Min. nach der Zuleitung von 0,2 ‰ ist das Tier in Seitenlage. 3 Min. später heftiger Streckkrampf; tot.	Sektion $2^1/_2$ Std. nach dem Tod. Totenstarre ziemlich deutlich; in dem Unterhautgewebe am Rücken eine Blutungsstelle; Lunge blutreich, in der linken Lunge hie und da kleine Blutungen (?); Leber blutreich; Milz und Niere normal; Hirn und Rückenmark normal; Blut bietet mikroskopisch, spektroskopisch und makroskopisch keine auffallenden Veränderungen.
4	Kaninchen 1275 g	Ventilation	0,15 ‰	2 Std. 55 Min.	2 Std. 55 Min.	Nach 2 Std. matt; Bauchlage mit herabhängenden Ohren; nach 2 Std. 40 Min. starke Dyspnoe (oberflächlich); Seitenlage; ab und zu ein Streckkrampf. Nach 2 Std. 55 Min. tot.	Sektion 2 Std. nach dem Tode. Leichenstarre fehlt. Lunge blutreich; hie und da strichförmige Blutungsstellen, Hypostasen; Trachealschleimhaut hyperämisch; Leber blutreich; Niere und Milz normal; Hirn und Rückenmark normal; Blut ziemlich geronnen, mikro-, spektro- und makroskopisch keine Veränderung.

Fortsetzung zu Tabelle III. (Kaninchen.)

Nr.	Gewicht	Versuchs-anordnung	Gehalt	Dauer des Aufenthalts	Tod nach Versuchsbeginn	Symptome	Sektionsbefund
5	Kaninchen 1590 g	Ventilation	0,1 ‰	3 St. 25 Min. Es waren 3 Vers. v. je 60—70 Min. Dauer v. je ca. 30 Min. Pause unterbrochen.	3 Std. 25 Min.	Im 1. u. 2. Vers. sehr ruhig u. keine Veränderg.; in der 2. Pause etwas unruhig; bei dem 3. Vers. schien sein Gang unsicher zu sein u. endl. (nach 1 Std.) wird das Tier v. einem Krampf befallen, es nahm Seitenlage ein, wird bewufstl. u. ist nach 10 Min. tot. Atmung: vor d. Vers. 144—200 (aus Angst!); in der 1. Versuchsz. sank sie von 125 auf 66 (viel tiefer als vor dem Vers.); in der 1. Pause 88 u. sank in der 2. Versuchszeit von 66 auf 46 (tiefer); bei der 2. Pause 80—150 u. oberflächl. Im 3. Vers. immer dyspnoisch, 120—175 u. oberflächl.	Sektion 14 Std. nach dem Tode. Leichenstarre deutlich; Lunge hyperämisch und ödematös. Trachea und Bronchien nicht besonders verändert; Leber sehr blutreich; Niere scheint normal. Blut zeigt mikro-, makro- und spektroskopisch keine Veränderung.
6	Kaninchen 1405 g	Ventilation	0,025 ‰	Am 1. Tg. m. Pause 2mal (1½ u. 2½ St.) Am 2. Tg. 2mal m. Paus. (1½ u. 3 St.), im ganzen 8 St. 20 Min.	31 Std.	Am 1. Tag keine nennenswerten Symptome. Tagesrespiration 40—46 (oft beobachtet). Am 2. Tag morgens auch normal; Respiration 40 und 44. Nachmittags stellen sich Krankheitssymptome nach etwa 3stündigem Aufenthalt ein. Respiration vertieft, etwas unregelmäfsig und langsam. Es werden einmal 34 Atemzüge gezählt; nach 3stündiger Dauer des Nachmittagsversuchs tot mit gestreckter Körperhaltung.	Sektion 16 Std. nach dem Tode. Leichenstarre zieml. stark; Lungen blutreich, u. zwar d. linke ob. Lappen hypostatisch, von der Schnittfläche fliefst reichl. Blut und Schaum; Leber blutreich; Nierenschnittfläche ist etwas getrübt; Milz klein; Harn kein Eiweifs und kein Blut; Blut dunkelrot, geronn., spektro-, mikro- und makroskopisch keine Veränderung.
7	Kaninchen 1320 g	Ventilation	0,01 ‰	Am 1. Tg. 7½ Std. Am 2. Tg. 9 Std., im ganzen 16 Std. 20 Min lang.	30 Std. 30 Min.	Am 1. Tag keine nennenswerten Störungen. Auch am 2. Tag war nach 9stündigem Aufenthalt im Kasten nichts Nennenswertes zu beobachten. Die Respiration war 60. 1 Std. später wurde aber das Tier tot gefunden.	Sektion 16 Std. nach dem Tode. Leichenstarre mäfsig; Lunge blutreich, am linken Lappen 2 kleine Blutungsstellen; Bronchien normal; Herzmuskel normal; Herz enthält geronnenes Blut. Leber zeigt einen Coccidienherd; Niere etwas blutreich, unter der Kapsel der rechten Niere liegt eine abgegrenzte, dunkelrote verhärtete Stelle, die nicht weiter untersucht wird; Milz klein; Blut spektro-, mikro- und makroskopisch keine Veränderung.

Versuchen über Azetylenwirkung sorgfältig ein Phosphorwasserstoffgehalt desselben anzuschliefsen, bei technischen Arbeiten mit Azetylen ist ein Gehalt an PH_3 event. nach Lunge und Cederkreutz (a. a. O.) durch Übertreiben über feuchten Chlorkalk zu beseitigen.

Das Interessanteste an meinen Ergebnissen ist jedenfalls das, dafs der Phosphorwasserstoff in kleinen Dosen in einigen Stunden kaum eine Wirkung entfaltet, dafs aber bei wiederholter Einatmung eine Wirkung auftritt, die man kumulativ nennen könnte. Während bei einem Versuch mit Katze VIII. eine einmalige fünfstündige Einwirkung von 0,025 ‰ das Leben nicht gefährdete und auch keine sichtliche Nachwirkung hatte, und eine zweimalige Inhalation von vier Stunden Dauer mit dreitägiger Pause noch nicht genügte, um Katze IX krank zu machen, erkrankte das letztere Tier heftig, als es drei Tage später der dritten Einatmung unterworfen wurde. Wie sich das erklärt, kann ich natürlich nicht bestimmt sagen. Ob noch wirksame phosphorhaltige Produkte im Körper vorhanden sind, wenn derselbe der zweiten und dritten Einatmung unterworfen wird und die Konzentration derselben durch die dreistündige Einatmung gesteigert wird, oder ob, was wahrscheinlicher scheint, blofs die durch die vorangegangenen Einatmungen geschädigten Zellen auf die folgenden empfindlicher reagieren, ist wohl zurzeit nicht zu entscheiden. Ich mufs aber die ernste Warnung aussprechen vor einer wiederholten Einatmung von Phosphorwasserstoff selbst in ganz kleinen Dosen.

Katze und Kaninchen reagieren ungefähr gleich empfindlich gegen das Gift. Die einzelnen Katzen zeigten eine ziemlich verschiedene Empfindlichkeit, währenddem die Kaninchen ziemlich gleich empfindlich waren. Die Ratte scheint ungefähr ebenso empfindlich zu sein. Der Frosch schien besonders widerstandsfähig.

Die Vergiftungssymptome sind bei der Katze folgende:

Bei relativ hoher Giftkonzentration. Das Tier wird sehr bald nach der Giftzuleitung unruhig, wahrscheinlich fällt ihm der Geruch auf (0,01 ‰ PH_3 riecht ziemlich auffällig). Die

Katze leckt sich, gähnt und zeigt sehr bald eine traurige, ruhige, träge Haltung. Die Haare sind häufig etwas gesträubt. Nach einiger Zeit kommt Würgen und Erbrechen zur Beobachtung. Und gewöhnlich sind von dieser Zeit an die Vergiftungserscheinungen viel deutlicher. Das Tier zeigt Atemnot, der Speichel flieſst aus dem offenen Mund, der Gang wird unsicher, das Tier schwankt. Das Erbrechen wiederholt sich, auch Kot- und Harnentleerung kommt häufig zur Beobachtung. Dann legt sich das Tier auf die Seite und zeigt Symptome von Betäubung. Es beginnen leichtere Zuckungen im Gesicht und den Extremitäten, seltener sind starke Konvulsionen. Unter diesen Erscheinungen tritt gewöhnlich ziemlich bald unter starker Pupillenerweiterung der Tod ein. Der Atemtypus ändert sich während der Versuchsdauer in folgender Weise: Im Anfang ist Zahl und Tiefe der Atemzüge fast unverändert, später meist die Frequenz etwas vermindert, die Tiefe etwas vermehrt. Dann ist gewöhnlich die Atmung beschleunigt und etwas flacher. Nach dem Erbrechen wird die Respiration stets unregelmäſsig, bald beschleunigt, bald verlangsamt. In dem benommenen Zustand sind die Atemzüge schwach und langsam, kurz vor dem Tode pflegen einige tiefe Respirationen gemacht zu werden.

Bei niedriger Giftkonzentration. In den Fällen, in denen die Katze einige Male mit längeren Unterbrechungen das stark verdünnte Gas einatmete, sind die Symptome am ersten Tag gewöhnlich unbedeutend. Etwas Mattigkeit, schlechtes Aussehen, Haare etwas gesträubt. Treten längere Zeit nach dem Versuch entweder ohne neue Giftatmung oder während einer solchen ernstere Vergiftungssymptome auf, so sind sie im wesentlichen die gleichen wie bei der akuten Vergiftung. Doch habe ich nur selten Erbrechen und Krämpfe beobachtet. Ich konnte auch nicht alle Tiere fortwährend unter Augen behalten.

Schulz hält das Erbrechen für eine Folge zentraler Reizung. Es ist dies offenbar die wahrscheinlichste Annahme, gegen die ich nichts einzuwenden weiſs. Jedenfalls habe auch ich am Magen bei der Sektion niemals eine anatomische Veränderung gesehen.

Die Symptome am Kaninchen sind folgende: Bei der Einwirkung des relativ konzentrierten Gifts ist das Tier anfangs unruhig, später etwas matt, doch erkennt man beim Kaninchen das Unwohlsein nie so deutlich wie bei der Katze. Später sinkt das Tier in Seitenlage und es erfolgen nun meist einige Streckkrämpfe, wobei das Tier häufig schreit. Das Bewufstsein schwindet und der Tod tritt ein. Die Atmung ist anfangs etwas verlangsamt und vertieft, später wird die Respiration sehr rasch und oberflächlich. Mit dem Schwinden des Bewufstseins wird sie wieder langsamer.

Bei der Einwirkung kleiner Konzentrationen. Das Tier ist lange Zeit ziemlich wohl, wird plötzlich von Krampf und Atemnot befallen und stirbt manchmal bald darauf. Auch die Respiration zeigt sich erst von dem Beginn der ausgesprochenen Vergiftungserscheinungen an deutlich verändert.

Schulz behauptet, dafs das Zittern ein konstantes Symptom der Tiere sei. Ich kann das nicht in vollem Umfang bestätigen, obwohl auch ich, namentlich im Winter, die Tiere sehr oft zittern gesehen habe.

Die anatomischen Veränderungen waren immer sehr gering. Die Totenstarre trat einige Stunden nach dem Tod regelmäfsig ein. Das Unterhautzellgewebe war zweimal trocken bei Tieren mit akuter Vergiftung. In der Pleurahöhle habe ich bei einer an chronischer Vergiftung verstorbenen Katze seröse Pleuritis, an einem subakut gestorbenen Kaninchen eine kleine Blutung in der Pleurahöhle gefunden. Die Lunge war fast stets hyperämisch. Kleine Blutungen waren namentlich bei den akut Vergifteten manchmal zu finden. Lungenödem wurde seltener beobachtet. Trachea und Bronchien meist blutreich mit Schleim bedeckt, in der Bauchhöhle wurde einmal bei einer Katze ein leicht seröser Ergufs gefunden. Bei einem Kaninchen einmal eine kleine Blutung unter dem Peritoneum. Die Leber war bei den akut gestorbenen Tieren derb und blutreich. Nach chronischer Vergiftung fand ich sie manchmal etwas verfettet. Magen, Darm, Milz, Niere, Rückenmark, Hirn und Harn boten keine Abweichungen von der Norm. Im Blut habe ich einmal bei

mikroskopischer Untersuchung auffallend kleine, lichtbrechende Körnchen in den Blutkörperchen gefunden (bei einer Katze). Sonst konnte ich nichts Besonderes bemerken. Meist war das Blut geronnen, nur zweimal nicht geronnen bei der Sektion. Mit dem Spektroskop konnte ich nur Oxy-Hämoglobin nachweisen.

Die Kohlensäureausscheidung bei der PH_3-Vergiftung.

Zum Schluſs teile ich noch einen Versuch mit über die Kohlensäureausscheidung eines vergifteten Tieres im Verhältnis zu einem gesunden Tier.

Es muſste von vornherein klar sein, daſs ein solcher Versuch nur dann einen Wert habe, wenn er längere Zeit fortgesetzt wird, und ich habe deshalb drei Tage lang vor dem Versuch und nachdem die Vergiftung begonnen hatte, 11 Tage lang täglich ca. zwei Stunden lang vor- und nachmittags die von der Versuchskatze ausgeschiedene Kohlensäure nach der Pettenkoferschen Methode dadurch bestimmt, daſs ich die Kohlensäure der Inspirationsluft von der Kohlensäure der Exspirationsluft abzog.

Das Tier bekam morgens regelmäſsig 100 ccm Milch; etwa vier Stunden nachher begann der Morgenversuch. Abends, nach dem Nachmittagsversuch, erhielt das Tier $^1/_4$ Pfund Fleisch.

Die Zahlen teile ich nur in kürzester Form mit.

(Siehe Tabelle IV auf S. 305.)

Aus den Versuchen kann man höchstens folgendes schlieſsen: Die erste PH_3-Atmung war ohne deutliche Wirkung auf die Kohlensäureproduktion. Auch während der zweiten PH_3-Atmung blieb die Kohlensäureausscheidung ungefähr die gleiche wie vorher. Als Nachwirkung der zweiten PH_3-Atmung trat eine zwei Tage lang dauernde erhebliche Steigerung der Kohlensäureausscheidung auf. Die dritte PH_3-Atmung brachte sehr niedere Kohlensäureausscheidungszahlen, die sich später etwas hoben, aber den normalen Wert nicht mehr erreichten. Wie

Tabelle IV.

Datum	Lufttemperat. in C	Körperzustand	CO_2 pro Stunde
4. VII. Nachm.	21,0°	meist wach (Gewicht 4180 g)	4,4179 g
6. » Vorm.	22,0°	meist wach	4,8052 »
6. » Nachm.	22,5°	» »	4,2562 »
6. » »	22,0°	» »	4,3741 »
7. » Vorm.	19,0°	schläft meist	3,8785 »
7. » Nachm.	18,0°	schlafend	3,7627 »
9. » Vorm.	**17,0°**	PH_3 atmend, meist wach	3,8908 »
9. » Nachm.	17,0°	kurz nach PH_3-Atmung meist wach	4,7098 »
10. » Vorm.	17,0°	halbschlafend	4,4386 »
10. » Nachm.	19,0°	»	3,6631 »
11. » Vorm.	18,0°	»	3,7691 »
13. » Nachm.	**22,0°**	PH_3 atmend, wach	4,0112 »
14. » Vorm.	19,0°	halbschlafend	3,9614 »
14. » Nachm.	22,0°	meist wach	5,7653 »
15. » Vorm.	20,0°	halbschlafend	5,5354 »
15. » Nachm.	22,0°	»	5,1311 »
16. » Vorm.	20,0°	»	6,3000 »
17. » Vorm.	21,0°	»	4,2446 »
17. » Nachm.	**23,0°**	PH_3 atmend, ziemlich schwere Symptome, wach	2,1701 »
18. » Vorm.	21,0°	schwer krank, ruhig, wach (Gewicht 4230 g)	1,8673 »
18. » Nachm.	23,0°	schwer krank	1,0511 »
20. » Vorm.	21,0°	» »	3,3692 »
20. » Nachm.	21,0°	» »	3,1055 »
21. » Vorm.	19,0°	schwer krank, stark dyspnoisch kurz vor dem Tod	2,6783 »

Die Zeiten, in denen sie je 4 Stunden PH_3 atmete, sind fett gedruckt.

weit an den niedrigen Zahlen ein gewisser Hungerzustand des Tieres (durch Verschmähung des Fleisches) schuld ist, ist nicht mit Bestimmtheit zu sagen. Sicher ist, dafs die erste niedrige Zahl 2,1 pro Stunde schon während der dritten Vergiftung beobachtet wurde. Man könnte diese Resultate etwa dahin zusammenfassen: Schwache Vergiftung mit PH_3 ist ohne Einflufs auf den Stoffwechsel. Bei starker Vergiftung ist die Kohlensäure-

produktion gesteigert, bei noch stärkerer vermindert. Das Resultat erscheint nicht unwahrscheinlich, es müfste aber vielfach nachgeprüft werden, um als bewiesen gelten zu können.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann, für die Anregung zur Bearbeitung dieses Themas und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit meinen herzlichsten Dank auszudrücken.

Experimentelle Studien über den Einfluſs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus.

Teil XII. Studien über Phosphortrichlorid.

Von

Dr. P. W. Butjagin,
Assistent am hygienischen Institut in Tomsk.

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

I. Einleitung.

Auf Veranlassung von Prof. K. B. Lehmann, dem wir die hygienisch-toxikologischen Untersuchungen vieler Gase verdanken, unternahm ich eine Untersuchung der Wirkung des Phosphortrichlorids (PCl_3) auf den Tierkörper in dem hygienischen Institut in Würzburg.

Das Phosphortrichlorid zeichnet sich durch folgende charakteristische physikalische Merkmale aus[1]: es bildet eine farblose Flüssigkeit von ätzendem Geruch, deren spez. Gewicht bei $0^0 = 1{,}61294$ beträgt, die bei 76^0 siedet, während sie noch bei -115^0 nicht in Erstarrung gerät. Das PCl_3 ist eine sehr unstete Verbindung. Beim Vorhandensein von Wasser wird es sehr leicht zersetzt unter Bildung von Salzsäure und phosphoriger Säure, wie aus der Gleichung zu ersehen ist:

$$PCl_3 + 3\,H_2O = H_3\,PO_3 + 3\,HCl.$$

1) Hollemann, Lehrbuch der anorganischen Chemie, 1900, S. 194.

Diese Zersetzung des Phosphortrichlorids geht schon in feuchter Luft vor sich, wie die weiſsen Dämpfe beweisen. Die physiologischen Wirkungen des PCl_3 sind bisher sehr wenig bekannt. Hier bin ich lediglich auf Eglis Beobachtung angewiesen.[1]) Nach Erwähnung der Tatsache, daſs PCl_3 besonders heftig die Atmungsorgane und die Augen angreift, beschreibt Egli folgendes Ereignis:

Zufälligerweise fuhr ihm während seiner Beschäftigung im Laboratorium, während er gerade einatmete, ein ganzer Strom von PCl_3-Dämpfen direkt ins Gesicht; bei sogleich erfolgter Ausatmung erschien eine ganze Wolke von Salzsäuredämpfen, worauf schmerzhafte Entzündung der Augen, brennender Schmerz in Nase und Hals, Druck auf der Brust, erschwertes Schlucken, lang andauernde Halsschmerzen und heftiger Katarrh sich einstellten; die Heilung trat nach 8 Tagen ein. Ein ähnlicher Fall wurde nach der Mitteilung von Dr. Vinassa beobachtet: infolge von Unvorsichtigkeit zersprang bei einem Studenten während der Erhitzung der Kolben, der mit PCl_3 gefüllt war; es traten dieselben Erscheinungen, wie sie oben angeführt wurden, ein, noch mit nachfolgendem schwerem Bronchialkatarrh.

2. Vorversuche zur Feststellung der genauesten Methode der Bestimmung des PCl_3.

Es ist bei der Anstellung von Versuchen mit Tieren zur Erforschung der Wirkung irgendeines Gases, das der von den Tieren einzuatmenden Luft künstlich beigemischt worden ist, selbstverständlich notwendig, so genau wie möglich die Quantität der zur Untersuchung gelangenden Beimischung zu dosieren. Bei Anwendung der Apparate von Prof. K. B. Lehmann bedient man sich zu diesem Zwecke zweier Methoden:

1. Es wird eine bestimmte Menge des zu untersuchenden Stoffes — es möge eine Flüssigkeit oder gar ein fester Körper sein — mit Hilfe gewisser Vorrichtungen verdampft,

1) Egli, K., Über die Unfälle beim chemischen Arbeiten. Programm der Züricher Kantonsschule, 1902, S. 49.

wobei die auf diesem Wege erhaltenen Dämpfe zusammen mit der atmosphärischen Luft in eine Kammer gelangen, in der sich das Versuchstier befindet.

Ist die Menge der durch die Kammer während eines bestimmten Zeitraumes geleiteten Luft bekannt (was die an dem Apparat befestigte Gasuhr anzeigt), wie auch die Menge des bei der Verdampfung verbrauchten Stoffes (aus der Differenz im Gewicht vor und nach dem Versuche), so kann auch der quantitative Gehalt des zu untersuchenden Stoffes in der vom Tiere während der ganzen Versuchszeit eingeatmeten Luft leicht ermittelt werden.

2. Die zweite Methode besteht darin, dafs eine bestimmte Menge Luft mittels einer Saugvorrichtung aus der Kammer ausgesaugt und durch eine Flüssigkeit, die zur Absorption der in der Luft enthaltenen Beimischung fähig ist, geleitet wird, worauf die absorbierte Substanz durch Gewichts- oder Mafsanalyse bestimmt wird.

Das erstere Verfahren ist ohne Zweifel weniger kompliziert als das zweite. Doch ist es unmöglich, für alle Fälle ohne weiteres eine und dieselbe Methode zu empfehlen. Es kann nämlich das erstere Verfahren, wie wir weiter erfahren werden, zu solch ungenauen Ergebnissen führen, dafs es völlig unbrauchbar bleibt; es mufs alsdann zum zweiten Verfahren, d. h. zur unmittelbaren Bestimmung des zu untersuchenden Stoffs in der Luft geschritten werden.

Dafür mufs in anderen Fällen das erstere Verfahren an Stelle des zweiten gesetzt werden, insbesondere für Substanzen, die in grofsen Mengen angewendet werden können und für deren Nachweis keine gute analytische Methode existiert.

Da wir es mit einer so unsteten chemischen Verbindung, wie es PCl_3 ist, zu tun haben, so lag der Gedanke schon von vornherein nahe, dafs das zweite unmittelbare Verfahren zur Bestimmung des PCl_3 in der Luft genauere Resultate ergeben

würde als das erstere, d. h. mittels der Gewichtsverringerung des Phosphortrichlorids vor und nach dem Versuche.

Zur Absorbierung der PCl_3-Dämpfe verwendete ich anfangs eine 10proz. und später eine 20proz. Ätznatronlösung. Dabei geht die Zersetzung des PCl_3 nach folgender Gleichung vor sich:

$$PCl_3 + 6\,NaHO = 3\,NaCl + Na_3\,PO_3.$$

Ich stellte zuerst folgende Vorversuche an, um mich zu unterrichten, mit welcher Energie die Absorbierung des PCl_3 durch die Ätznatronlösung zustande kommt:

Es wurde in einen nicht sehr grofsen Destillierkolben eine bestimmte Menge Phosphortrichlorids vorsichtig eingebracht, worauf das Gefäfs mit einem Gummipfropfen verschlossen wurde, durch den zwei unter einem Winkel gebogene Glasröhrchen verliefen: eines führte bis zum Boden des Kolbens, das andere endigte unter dem Pfropfen; beide Enden der Glasröhrchen wurden in Gummischlauchstücken eingeschoben und mit Quetschhähnen versehen. In solcher Ausstattung wurde das Gefäfs auf einer genauen Tarierwage abgewogen (mit einer Genauigkeit bis zu 0,02 g). Das Knie des längeren Röhrchens wurde dann mit zwei Waschflaschen, die eine mit $CaCl_2$, die zweite mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt, in Verbindung gebracht. Die letztere Waschflasche kommunizierte endlich mit dem Hahn eines gewöhnlichen Gasometers. Beim Eindrücken von Luft aus dem Gasometer gelangte letztere in den Kolben mit PCl_3 erst nach Trocknung in den eingeschalteten Waschflaschen. Die infolge des Luftstromes gebildeten Phosphortrichloriddämpfe gelangten durch das obere kurze Rohr in drei aufeinanderfolgende, unter sich kommunizierende Waschflaschen, die zu je 60—70 ccm 10proz. Ätznatronlösung enthielten.

Wurde die Menge der durchgeleiteten Luft innerhalb eines bestimmten Zeitabschnittes abgelesen (nach dem Umfange des Wassers im Gasometer) und war auch das Gewicht des PCl_3-Kolbens vor und nach dem Versuche bekannt, so konnte die Verdampfungsschnelligkeit des PCl_3, wie die absolute Quantität des verdampften Stoffes leicht ermittelt werden. Die Schnellig-

keit des Luftstromes konnte leicht mittels des Gasometerhahnes geregelt werden.

Nach Beendigung des Versuches wurde in den Natronvorlagen die Chlormenge nach den Methoden von Mohr und Volhard und nach der Gewichtsmethode bestimmt. Es wurde auch die Phosphormenge bestimmt, zu welchem Zwecke die phosphorige Säure mittels Brom in Phosphorsäure oxydiert wurde, worauf erst die Bestimmung des P-Gehalts auf dem Gewichtswege erfolgte (in Gestalt von $Mg_2 P_2 O_7$).

Die Vorversuche ergaben folgende Resultate:

Es wurde genommen 2,4 g PCl_3; entsprechend 1888 mg Cl, Luftstrom: 5 l in 20 Minuten.

Versuch 1.

	Gefunden mg Cl			
	1. Vorlage	2. Vorlage	3. Vorlage	in Summa
Nach Mohr . . .	1820	240	80	2140
» Volhard . .	1700	185	48	1933

Also gefunden nach Mohr mehr als nötig ist, bis zu 252 mg oder 13,4%, auch nach Volhard mehr bis zu 45 mg oder 2,4% gefunden.

Versuch 2.

Es wurde genommen 2,6 g PCl_3; entsprechend 2014 mg Cl und 586 mg P. Luftstrom: 5 l in 1 Stunde 20 Minuten.

	Gefunden mg Cl			
	1. Vorlage	2. Vorlage	3. Vorlage	in Summa
Nach Mohr	2010	250	60	2320
» Volhard . . .	1880	161	26	2067
» Gewichtsanalyse	1888	136	27	2051

Gefunden an P in Summa 570 mg. Also gefunden an Cl nach Mohr mehr als nötig ist bis zu 306 mg oder 15,2%; nach Volhard mehr bis zu 53 mg oder 2,6% und endlich mit Gewichtsanalyse gefunden mehr bis zu 37 mg oder 1,8%. An P wurde mehr bis zu 16 mg oder 3% gefunden.

Auf Grund der Ergebnisse der zwei angeführten Versuche muſs vor allem bemerkt werden, daſs das Cl sich nach Mohr immer in viel gröſserer Menge als nach Volhard fand. Der Grund dafür ist verständlich, da beim Titrieren der neutralen Flüssigkeit, die nebeneinander Chlor-, Phosphor- und Chromverbindungen enthält, mittels Silbernitrat, zuerst Chloride, dann Phosphate und erst zuletzt das Chromsilber gefällt wird. Infolgedessen wird eine gewisse Menge von Silbernitrat an die Phosphorverbindungen gebunden, noch ehe die titrierte Flüssigkeit das Ende der Reaktion und des Titrierens aufweist.

Es muſs demzufolge anerkannt werden, daſs die Chlorbestimmung nach Mohr und die Berechnung der PCl_3-Quantität daraus sich als ein ziemlich ungenaues Verfahren für unsere Zwecke erwiesen hat.

In den oben angeführten Versuchen benutzte ich zur Absorbierung des Phosphortrichlorids mit bestem Erfolge eine 10proz. Lösung von Na H O, in folgenden zwei Versuchen (3 und 4) dagegen eine 20proz. Lösung NaHO. Die Chlorbestimmung geschah dabei nur nach der Methode von Volhard und auf dem Gewichtswege.

Versuch 3.

Es wurde genommen 3,6 g PCl_3; entsprechend: 2788 mg Cl und 812 mg P. Luftstrom: 5,25 l in 1 Stunde 20 Minuten.

In den drei Waschflaschen befanden sich je 50 ccm einer 20proz. Na HO-Lösung.

	Gefunden mg Cl			
	1. Vorlage	2. Vorlage	3. Vorlage	in Summa
Nach Volhard . . .	2663	79	0	2742
» Gewichtsanalyse	2701	53	0	2754

Wie ersichtlich, wurden die Chlormengen nach Volhard und mittels Gewichtsanalyse fast übereinstimmend genau gefunden; der Fehler ist gleich + 1—2 %. An Phosphor wurde in Summa 803,8 mg gefunden. Der Fehler in der P-Menge beträgt also auf — 1 %.

Versuch 4.

Es wurde 6,65 g PCl_3 genommen; entsprechend 5150 mg Cl und 1500 mg Phosphor. Luftstrom: 6,5 l in 1 Stunde 40 Minuten.

Die erste Waschflasche wurde mit 80 ccm, die zweite mit 50 ccm der 20 proz. Na HO-Lösung gefüllt.

	Gefunden mg Cl		
	1. Vorlage	2. Vorlage	In Summa
Nach Volhard	5210	Spuren	—
» Gewichtsanalyse . . .	5140	»	—

Gefunden an Phosphor 1502 mg. Folglich beträgt der Fehler für die Methode Volhards + 1 %, für die Gewichtsanalyse — 0,2 % und für die Menge Phosphor + 0,1 %.

Somit kommen wir auf Grund der Ergebnisse des letzteren Versuches zur Einsicht, daſs bei verhältnismäſsig gröſserer Quantität der Ätznatronlösung das ganze PCl_3 schon in der ersten Waschflasche absorbiert wird. Dieser Umstand gibt uns die Möglichkeit, uns auf einen verhältnismäſsig kleineren Umfang der Flüssigkeit zur Chlorbestimmung zu beschränken und bewirkt auch teilweise eine gröſsere Genauigkeit der zu erzielenden Resultate.

Freilich spielt bei der Vollständigkeit der PCl_3-Absorbierung eine groſse Rolle nicht sowohl die absolute Menge der in der Flasche enthaltenen Atznatronlösung, als die Höhe der Flüssigkeitsschicht, durch die die Dämpfe des PCl_3 ihren Weg zu machen haben.

Nach den angeführten Vorversuchen konnte man erst zur Untersuchung des Einflusses des Phosphortrichlorids auf den Tierkörper schreiten. Allein schon bei den ersten Versuchen nach dieser Richtung hin trat ein Umstand von so wesentlicher Bedeutung ein, daſs man sich gezwungen sah, wiederum einige neue Vorversuche anstellen zu müssen. Die Sache verhält sich nämlich so, daſs die PCl_3-Dämpfe beim Eintritt in die Kammer, in der sich das Tier aufhält, sich teilweise infolge der Luftfeuchtigkeit zersetzen, teilweise an den Kammerwänden kondensieren und zum Teil endlich durch das Fell der Tierhaut absorbiert werden.

Wie groſs der Verlust an PCl_3 infolge der erwähnten Ursachen ist, erhellt z. B. aus meinen ersten Versuchen mit Tieren,

bei denen sich der Chlorgehalt in der Kammerluft 10 mal geringer ergab, als es nach der Menge des im Kolben verdampften PCl_3 zu urteilen, der Fall sein müſste. Ich stellte daher zum Zwecke der Ermittelung der PCl_3-Menge, die von dem Glaskasten in irgendeiner Form gebunden wird, zwei Versuche nach folgender Richtung hin an.

Durch die von innen sorgfältig getrocknete Kammer (ohne Tier) drang die Luft, die PCl_3-Dämpfe enthielt, ein, worauf aus der Kammer in verschiedenen Zeitabständen Luftproben genommen und auf ihren Chlorgehalt geprüft wurden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Stunden	Versuch 5				Versuch 6			
	Es sollte gefunden werden		Gefunden		Es sollte gefunden werden		Gefunden	
	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %
1.	4,70	3,60	1,8	50	0,28	0,22	0,10	45,5
2.	3,98	3,06	2,2	71	—	—	—	—
3.	—	—	—	—	0,55	0,42	0,26	61,9
4.	5,65	4,35	3,8	87,3	0,60	0,46	0,35	76,1
5.	—	—	—	—	0,64	0,49	0,41	83,1
6.	—	—	—	—	0,72	0,55	0,51	92,2

Nach den gegebenen Daten zu urteilen, ist die Menge der PCl_3-Dämpfe, die sich den Kammerwänden ansetzen, eine ziemlich beträchtliche, auch geschieht die Ansetzung selbst nicht gleichmäſsig während des ganzen Versuches. Im Verlauf der ersten Stunde schlägt sich die gröſste PCl_3-Menge nieder, so daſs in der Kammerluft zu jener Zeit nur etwas weniger als die Hälfte des während dieser Zeit verdampften PCl_3 enthalten ist; später nimmt die PCl_3-Menge in der Luft allmählich zu, doch enthält die Luft auch am Ende des Versuches, also nach 6 Stunden, lediglich 92% des verdampften PCl_3; folglich schlägt sich noch immer ca. 8% dieses Stoffes an den Kammerwänden nieder.

Aus den Versuchen ist auch zu erfahren, daſs bei der Benutzung gröſserer Dosen (Versuch 5) die Zeit, während der eine

beträchtliche Menge des verdampfenden PCl_3 sich verdichtet, dem Anschein nach gröfser ist.

Hieraus folgt, dafs die Methode der quantitativen Bestimmung aus dem Gewichte des verdampften PCl_3 in der Kammerluft in hohem Mafse ungenaue Resultate ergeben müfste.

Noch schlimmer werden die Resultate, wenn der Kasten statt trockener feuchte Luft enthält, wie folgende zwei Versuche beweisen.

Vor dem Anfange des Versuches wurden die Kammerwände von innen reichlich mit destilliertem Wasser befeuchtet; aufserdem wurden in der Kammer auf Glasstangen Streifen von reichlich mit Wasser benetztem Filtrierpapier ausgehängt (der Wasserüberflufs, der sich auf dem Kammerboden sammelte, flofs durch eine sich dortselbst befindliche Öffnung ab). Durch die so befeuchtete Kammer saugte ich in gewöhnlicher Weise die PCl_3-Dämpfe enthaltende Luft hindurch.

Die Ergebnisse der direkten Bestimmung des Cl (resp. des PCl_3) in der Kammerluft erhellen aus folgender Tabelle.

Stunden	Versuch 7				Versuch 8			
	Es müfste gefunden werden		Gefunden		Es müfste gefunden werden		Gefunden	
	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %	Cl in %	Cl	Cl	Cl in %
1	0,4	0,31	0,05	16,1	0,54	0,42	0,05	12
2	0,4	0,31	0,06	19,4	0,54	0,42	0,08	19
3 } 4	0,4	0,31	0,07	22,6	—	—	—	—
5	—	—	—	—	0,54	0,42	0,19	45
6	0,4	0,31	0,19	61,3	0,52	0,40	0,25	63

Es schlägt sich also bei der Befeuchtung der Kammer an ihren Wänden eine noch viel gröfsere Menge des Chlors nieder; in den ersten Versuchsstunden ergibt sich in der Luft im ganzen nicht mehr als 15—20% der theoretischen Menge und der Prozentsatz steigt zu Ende des Versuches nur bis zu 60%.

Nach Beendigung des Versuches 8 nahm ich das in der Kammer ausgehängte Filtrierpapier heraus, zog aus demselben wiederholt die Salzsäure aus, wusch auch die Kammerwände vorsichtig mit destilliertem Wasser einige Male ab, worauf alles Ab-

spülwasser zusammengegossen und in demselben der gesamte Gehalt an Cl bestimmt wurde.

Es hat sich ergeben, dafs auf solche Weise an den Kammerwänden und an dem Filtrierpapier sich 55 % der gesamten, im PCl_3 enthaltenen und zu diesem Versuche verbrauchten Chlormenge angesetzt hatten.

Berechnet man im 8. Versuche die Durchschnittsgröfse des faktischen Chlorgehalts der Luft, so findet man 35 %; folglich müfsten sich in der Kammer 65 % der gesamten Chlormenge verdichtet haben. Nun wurden aber von mir im Abspülwasser, wie gesagt, im ganzen nur 55 % gefunden. Allein diese Differenz von 10 % kann teilweise durch die Schwierigkeiten der vollständigen Abspülung des ganzen Chlors von den Kammerwänden, wie auch teilweise durch gewisse Unbequemlichkeiten beim Sammeln des Abspülwassers (und Bindung durch den Kitt) erklärt werden, auch konnte ein Teil des PCl_3 von dem Paraffin absorbiert sein, mit welchem die ölfarbgestrichene, aus Eisen hergestellte Rück- und Bodenfläche des Käfigs überzogen war.

Endlich ist die Annahme, dafs 35 % den wirklichen Durchschnitt des Chlorgehalts der Luft angeben, ziemlich willkürlich: Um das Paraffin zu beseitigen, wurden Rück- und Bodenfläche mittelst Kitt mit Glasplatten belegt.

Die drei unter diesen Bedingungen ausgeführten Versuche ergaben folgende Resultate. (Der Kasten war dabei trocken.)

Stunden	Versuch 9				Versuch 10				Versuch 11			
	Es sollte gefunden werden		Gefunden		Es sollte gefunden werden		Gefunden		Es sollte gefunüen werden		Gefunden	
	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %
1	2,01	1,56	1,01	65	0,88	0,69	0,40	58	0,30	0,24	0,11	46
2	2,01	1,56	1,39	89	0,88	0,69	0,41	59	0,30	0,24	0,11	46
3	—	—	—	—	0,88	0,69	0,45	65	0,30	0,24	0,15	63
4	1,73	1,34	1,20	90	—	—	—	—	0,30	0,24	0,19	79
5	1,73	1,34	1,20	90	0,83	0,65	0,56	86	—	—	—	—
6	1,50	1,16	1,10	95	0,83	0,65	0,60	92	—	—	—	—

Nach diesen Daten erwies sich, im Vergleich zu den Endergebnissen der vorigen Versuche (5 und 6), die Vervollkomm-

nung in der Ausstattung der Kammer (alle Wände aus Glas) zum Zwecke der Verringerung der Kondensation des PCl_3 als nützliche Einrichtung. Bei Benutzung gröſserer Dosen von PCl_3 gewahrte man schon in den ersten Versuchsstunden eine bedeutende Abnahme in der Menge der sich an den Wänden niederschlagenden PCl_3-Dämpfe; in den früheren Versuchen enthielt die Luft in der ersten Stunde im ganzen 50 % und in der zweiten Stunde 72 % des während dieser Zeit verdampften PCl_3; jetzt aber, wo die Kammerwände ohne Ausnahme aus Glas bestanden, haben sich in der ersten Stunde schon 65 % und in der zweiten 89 % des verdampften Stoffes bestimmen lassen. Bei kleineren Dosen PCl_3 gewahrt man auch in den letzteren Versuchen keine bemerkenswerte Differenz im Vergleich zu den früheren Versuchen; in beiden Fällen, so in den ersten, wie in den letzten Stunden, haben sich ungefähr gleiche Mengen PCl_3 in der Kammerluft bestimmen lassen.

Endlich gab der Versuch mit künstlich vergröſserter Feuchtigkeit der Kammerluft wie der Kammerwände, der zu demselben Zwecke und nach derselben Art wie die Versuche 7 und 8 angestellt war, folgende Resultate in dem ganz mit Glas ausgekleideten Kasten:

Stunden	Versuch 12			
	Es sollte gefunden werden		Gefunden	
	PCl_3	Cl	Cl	Cl in %
1	4,0	3,1	0,97	31
3	4,0	3,1	0,97	31
4	2,5	1,9	1,10	58
5	2,5	1,9	1,46	77
6	2,5	1,9	1,50	79

Aus den angeführten Versuchsdaten erhellt augenscheinlich die geringere Menge des Cl-Verlustes im Vergleich zu den Versuchen 7 und 8, wo die Luft am Anfang des Versuches nur etwa 15 %, am Ende 60 % des verdampften PCl_3 enthalten hat, während im letzten Versuche die Gröſsen: 31 % am Anfang und 79 % am Ende betragen.

In dem Wasser, das zur Abspülung der Kammerwände nach der Beendigung des Versuches gedient hatte, wie auch in demjenigen, womit das Chlor aus dem Filtrierpapier extrahiert worden war, wurden insgesamt 42,8 % der ganzen Chlormenge, die zum Versuche verbraucht war, gefunden.

Bestimmt man die Durchschnittsgröſse der sechs Werte des tatsächlichen Gehalts an Cl im zwölften Versuche, so findet man 55,3 %, es müſsten in der Kammer folglich 44,7 % Chl verblieben sein, es ist also die Differenz im Vergleich zu der oben angegebenen Ziffer nur etwa 2 % gleich, was durch die Schwierigkeit der Chlorabspülung von den Kammerwänden bedingt sein kann.

Faſst man die allgemeinen Folgerungen aller oben angeführten Vorversuche zusammen, so ergibt sich die folgende wichtige Tatsache: Ein Teil PCl_3, das in der Luft der Glaskammer verdampft, schlägt sich für gewöhnlich ziemlich schnell als PCl_3 oder HCl und PO_3H_3 an den Wänden nieder; weiter ist die Menge des sich auf solche Weise kondensierenden PCl_3 nicht immer die gleiche, sie hängt vor allem und hauptsächlich von dem Feuchtigkeitsgrade der gegebenen Luft, ferner von einem etwaigen Paraffingehalt des Kastens, von der absoluten Menge des PCl_3, und endlich aller Wahrscheinlichkeit nach von der Temperatur der Kammerluft ab.

Als praktische Folgerung für die Bestimmung des Gasgehaltes bei Anwesenheit von Tieren ergibt sich: nur direkte und häufige Untersuchungen der Luft sind für die Ermittelung ihres Gehaltes an PCl_3 oder seiner Spaltungsprodukte brauchbar.

Wie wir oben gesehen haben, zerfällt PCl_3 mit Wasser glatt zu HCl und PO_3H_3; es wird also ein groſser Teil der Substanz schon in der feuchten Luft, der Rest auf den Schleimhäuten der Tiere diese Umwandlung durchmachen, — jedenfalls fehlt es mir sowohl an einem Mittel, zwischen der Wirkung des PCl_3 und seiner Spaltungsprodukte zu unterscheiden, als an einer Methode, um PCl_3 neben seinen Spaltungsprodukten zu bestimmen — ich habe deshalb regelmäſsig den Salzsäuregehalt, ausnahmsweise auch den an phosphoriger Säure bestimmt.

3. Tierversuche mit PCl_3

Als Objekte der Untersuchung dienten Katzen und Kaninchen. In den meisten Fällen wurden in die Kammer gleichzeitig eine Katze und ein Kaninchen eingesperrt, doch wurden einige Versuche nur mit Katzen vorgenommen. Die Tiere mittleren Alters wurden bevorzugt; sie wurden vor und nach dem Versuche gewogen und während des Versuches wurden möglichst alle bei den Tieren eingetretenen Veränderungen vermerkt.

Es werden unten kurze Auszüge aus den Protokollen nur der drei Versuche mit kleinen, mittleren und starken Dosen, wie auch eine allgemeine Tabelle, wo die erhaltenen Versuchsergebnisse zusammengestellt sind, angeführt.

Alle Angaben der Respiration berechnen sich auf eine Minute.

Versuch 2.

Versuchstiere: Katze und Kaninchen. Gehalt der Kammerluft an PCl_3 Nach dem Gewichtsverlust des Kolbens: 0,08 ‰; nach Bestimmung Cl: 1. und 2. Stunde 0,013 ‰; 3., 4., 5. und 6. Stunde 0,02 ‰. Versuchsdauer: 6 Stunden Durchlüftung: 2060 l pro 1 Minute.

Eine erwachsene Katze, 3230 g; Respiration 22 pro Minute.

Nach 5 Minuten: Dünnflüssige Speichelsekretion, beleckt sich, leichte Nasensekretion.

Nach 10 Minuten: Respiration 24, unregelmäfsig.

Nach 25 Minuten: Dickflüssige Speichelsekretion, Husten, Unruhe, Respiration 28.

Nach 36 Minuten: Dünnflüssige Speichelsekretion, Dyspnoe.

Nach 56 Minuten: Respiration stark dyspnoetisch.

Nach 76 Minuten: Respiration 24, angestrengt dyspnoetisch.

Nach 116 Minuten: Status idem; blinzelt; Augen leicht feucht.

Nach 135 Minuten: Respiration 22; dünnflüssige Speichelsekretion; Unruhe.

Nach 145 Minuten: Ruhig; Augen geschlossen; Status idem.

Nach 162 Minuten. Dickflüssige Speichelsekretion.

Nach 240 Minuten: Status idem, Niesen, Respiration angestrengt, 22.

Nach 330 Minuten: Respiration unregelmäfsig, 24.

Nach 363 Minuten: Herausgenommen.

Gewicht nach dem Herausnehmen 3065 g, Verlust also 5 %. Die Katze mit Chloroform getötet.

Sektion: Leichte Verfärbung des Nasenskelettes; Trachea wenig injiziert; Lungen kollabierend, jedoch ziemlich ödematös; einige kleine Atelektasen und Ecchymosen. Übrige Organe normal.

Kaninchen, 1230 g, Respiration 74.
Nach 30 Minuten: Keine Sekretion, ruhig, Respiration 64.
Nach 45 Minuten: Respiration 56.
Nach 86 Minuten: Kleine Unruhe; Respiration 52.
Nach 131 Minuten: Ruhig; Respiration 48.
Nach 145 Minuten: Unruhe, beleckt sich.
Nach 210 Minuten: Ruhig, Respiration 50.
Nach 340 Minuten: Respiration 40, vertieft; Augen geschlossen.
Nach 363 Minuten: Status idem.

Gewicht nach dem Herausnehmen 1190 g. Verlust also 3 %.

Versuch 8.

Versuchstiere: Katze und Kaninchen. Gehalt der Kammerluft an PCl_3. Nach dem Gewichtsverlust des Kolbens 2,45 ‰ (3.—4. Stunde); nach der Bestimmung Cl: 0,33 ‰. Versuchsdauer: 6 Stunden. Durchluftung: 2200 l pro Stunde.

Eine Katze, 2755 g; Respiration 26. Sofort Unruhe; atmet durch den geöffneten Mund; Husten, Niesen.

Nach 1 Minute: Dünnflüssige Speichelsekretion.

Nach 3 Minuten: Rhinitis, Conjunctivitis.

Nach 5 Minuten: Status idem; schäumende Speichelsekretion; Respiration angestrengt.

Nach 10 Minuten: Respiration unregelmäſsig.

Nach 20 Minuten: Augen meist geschlossen.

Nach 26 Minuten: Respiration 24 durch den Mund; kleine Unruhe dickflüssige Speichelsekretion.

Nach 33 Minuten: Respiration 20, schäumende Speichelsekretion.

Nach 45 Minuten: Tränen.

Nach 52 Minuten: Respiration 16, unregelmäſsig, angestrengt.

Nach 84 Minuten: Respiration ziemlich unregelmäſsig, durch den Mund.

Nach 120 Minuten: Respiration 26, Nasensekretion; Dyspnoe stark.

Nach 170 Minuten: Status idem; Nase gerötet; dünnflüssige Speichelsekretion.

Nach 288 Minuten: Sitzt ruhig; Respiration 24.

Nach 360 Minuten: Status idem. Herausgenommen.

Gewicht nach dem Herausnehmen 2570 g, also Verlust 7 %. Die Katze durch Chloroform getötet gleich nach dem Versuch.

Sektion: Starke Corneatrübung, Nase etwas feucht, die Ränder der Nasenlöcher zeigen Schleimhautanätzung. Trachea injiziert, enthält Schleim und etwas schäumende blutige Flüssigkeit. Deutliches Epiglottisödem. Sehr starkes Emphysem der Lungen.

Kaninchen, 1178 g, Respiration 52.
Nach 5 Minuten: Unruhe; Nasensekretion; Augen geschlossen.
Nach 17 Minuten: Rhinitis, ruhig; beleckt sich; Respiration 34.

Nach 24 Minuten: Respiration 32, unregelmäfsig.

Nach 45 Minuten: Status idem. Anätzung der Cornea.

Nach 93 Minuten: Respiration 20.

Nach 170 Minuten: Respiration 24; Dyspnoe; Zittern; Nase gerötet.

Nach 240 Minuten: Starke Corneatrübung; Tränen.

Nach 305 Minuten: Status idem; sehr wenig Speichel (2—3 Tropfen).

Nach 360 Minuten: Cornea opak. Herausgenommen.

Gewicht nach dem Herausnehmen 1150 g, Verlust also 2%. Das Kaninchen durch Chloroform getötet gleich nach dem Versuch.

Sektion: Trachea hyperämisch, enthält etwas Flüssigkeit; Lunge wenig ödematös; infiltrierte Partien in der rechten Lunge.

Versuch 11.

Versuchstier: Katze. Gehalt der Kammerluft an PCl_3. Nach dem Gewichtsverlust des Kolbens: 1. und 2. Stunde: 3,9‰, 4. und 5. Stunde 3,1‰; nach der Bestimmung Cl: 1. Stunde 0,57‰, 2. Stunde 0,73‰, 4. und 5. Stunde 1,08‰. Versuchsdauer: 5 Stunden 6 Minuten. Durchlüftung: 3200 l pro 1 Stunde. Katze 4030 g, Respiration 24. Sofort Unruhe, Niesen, Husten, Speichelsekretion.

Nach 2 Minuten: Dünnflüssige Speichelsekretion; Atmung durch den Mund.

Nach 4 Minuten: Starke Speichelsekretion; Rhinitis.

Nach 7 Minuten: Conjunctivitis; Respiration unregelmäfsig, 20.

Nach 10 Minuten: Augen fast zu; ruhig.

Nach 16 Minuten: Respiration angestrengt, 16; streckt den Kopf nach oben empor.

Nach 29 Minuten: Kleine Unruhe; Dyspnoe.

Nach 47 Minuten: Status idem.

Nach 90 Minuten: Sitzt ruhig; Respiration sehr angestrengt, 16.

Nach 131 Minuten: Speichelsekretion dauert fort.

Nach 230 Minuten: Katze nimmt Seitenlage ein.

Nach 269 Minuten: Kleine Unruhe; Katze nimmt Seitenlage ein.

Nach 306 Minuten: Tod. Gewicht 3750 g; Verlust also 7%.

Sektion: Lunge sehr stark emphysematös, besonders an den Rändern in den Unterlappenpartien trübrot. Bronchien enthalten etwas Schleim. Epiglottis ödematös, injiziert; dünner Schleim in der Trachea, dieselbe schwach injiziert. Schleim in Nasenlöchern; starke Corneatrübung.

(Folgt Übersichtstabelle S. 322—326.)

Übersichtstabelle.

Nr.	Gehalt PCl_3 n. der direkt. Wägung (mg ‰)	Gehalt Cl (mg ‰) Nach d. direkt. Bestimmung	Gehalt Cl (mg ‰) Dies entspricht PCl_3	Versuchsdauer (Stunden)	Gewicht des Tieres (g)	Symptome während des Versuchs	Schicksal des Tieres nach dem Versuch
1	0,03	1. Std. 0,003 2. Std. 0,004	0,004 0,005	3	Katze 3300	Kleine Unruhe; nach 9 Min. Niesen, Speichelsekretion; Husten; nach 60 Min. unregelmäſsige Respiration, sie sinkt von 24 auf 20; leichte Nasensekretion. Verlust des Gewichtes 3 %.	Nach dem Herausnehmen normal.
2	0,08	2. Std. 0,01 3. Std. 0,015	0,013 0,020	6	Katze 3230	Dünnflüssige Speichelsekretion, Husten, Nasensekretion; zu Ende der 1. Std. stark dyspnoetische Respiration; während der 2. Std. Conjunctivitis. Augen geschlossen (4. Std.). Verlust des Gewichtes 5 %.	Durch Chloroform getötet gleich nach dem Versuch. Sektion: Leichte Verfärbung des Nasenskeletes, Trachea wenig injiziert. Lungen etwas kollabierend; ziemlich ödematös einige kleine Atelektasen und Ecchimosen.
					Kaninchen 1230	Kleine Unruhe; keine Sekretion. Respiration: anfangs 74, nach 340 Min. 40. Verlust des Gewichtes 3 %.	Nach dem Herausnehmen normal.
3	0,11	1. Std. 0,01 3. Std. 0,02	0,013 0,027	6	Katze 3500	Sofort kleine Unruhe; dünnflüssige Speichelsekretion (nach 15 Min.), nach 20 Min. dickflüssige Speichelsekretion; nach 30 Min. unregelmäſsige Respiration, später (nach 165 Min.) Dyspnoe; unregelmäſsig dyspnoetisch. Respiration dauert bis Ende des Versuchs fort. Gewichtsverlust 5 %.	
					Kaninchen 1830	Zeigt während der ersten Stunden des Versuches wenig Symptome. Nach 70 Min. leichte Reizsymptome; leichte Nasensekr. Respiration: anfangs 62, nach 302 Min. 40. Gewichtsverlust 1 %.	Nach dem Herausnehmen normal.

Fortsetzung der Übersichtstabelle.

Nr.	Gehalt PCl_3 n. der direkt. Wägung (mg ‰)	Gehalt Cl (mg ‰) Nach d. direkt. Bestimmung	Gehalt Cl (mg ‰) Dies entspricht PCl_3	Versuchsdauer (Stunden)	Gewicht des Tieres (g)	Symptome während des Versuchs	Schicksal des Tieres nach dem Versuch
4	0,24	3.-4. St. 0,023	0,03	6	Katze 2100	Sofort kleine Unruhe, Niesen, Lecken, Blinzeln; nach 6 Min. dünn- und dickflüssige Speichelsekretion; nach 24 Min. Nasensekretion; nach 39 Min. unregelmäfsige dyspnoetische Respiration; nach 163 Min. Augen geschlossen; Respiration anfangs 26 nach 3 Min. 18mal. Gewichtsverlust 3 %.	
					Kaninchen 1140	Nach 39 Min. Kleine Unruhe, Nasensekretion (nach 52 Min. Respiration sinkt von 64 auf 30 (nach 260 Min.). Gewichtsverlust 1 %.	
5	1-3 St. 0,23	0,03	0,04	7	Katze 3540	Sofort Niesen, nach 2 Min. Speichel. Nach 8 Min. Husten, Respiration durch den Mund; nach 15 Min. Blinzeln, dickflüssige Speichelsekretion; nach 20 Min. unregelmäfsig dyspnoetische Respiration; nach 42 Min. Augen geschlossen; Conjunctivitis; nach 90 Min. dünnflüssige Speichelsekretion; nach 300 Min. Nase gerötet. Respiration sinkt von 30 auf 18 (nach 2 Std.). Gewichtsverlust 4 %.	
	5-7 St. 0,32	0,07	0,09				
					Kaninchen 1668	Sehr wenig Symptome; keine wesentliche Sekretion. Respiration sinkt von 78 auf 70 (nach 23 Min.), auf 48 (nach 60 Min.), auf 36 (nach 250 Min.). Gewichtsverlust 3 %.	

Fortsetzung der Übersichtstabelle.

Nr.	Gehalt PCl_3 n. der direkt. Wägung (mg ‰)	Gehalt Cl (mg ‰) Nach d. direkt. Bestimmung	Gehalt Cl (mg ‰) Dies entspricht PCl_3	Versuchsdauer (Stunden)	Gewicht des Tieres (g)	Symptome während des Versuchs	Schicksal des Tieres nach dem Versuch
6	1.-3. St. 0,23 5.-7. St. 0,32	0,03 0,07	0,04 0,09	10	Katze[1] 3380	Nach 3 Min. kleine Unruhe. Niesen u. Husten; nach 6 Min. Speichelsekr.; n. 15 Min. Nasensekr.; nach 24 Min. unregelmäſs. Respiration, angestrengt, durch den Mund (nach 152 Min.), Respiration sinkt von 35 auf 18 (nach 9 Std.). Gewichtsverlust 7 %.	—
					Kaninchen[1] 1710	Die ersten 3 Std. ganz ruhig; Respir. dyspnoetisch; sinkt von 76 auf 34 (nach 6 Std.), nach 4 Std.: sitzt mit geschlossenen Augen. Gewichtsverlust 6 %.	—
7	1.-2. St. 0,76 3. St. 0,76 5. St. 0,76 6. St. 0,76	0,10 0,12 0,32 0,44	0,13 0,16 0,43 0,59	6	Katze 3130	Sofort Reizsympt. Wischen d. Nase, Husten, Niesen, Speichelsekr.; nach 3 Min. Nasensekr., unregelmäſs. Respir.; nach 10 Min. Conjunctivitis; n. 33 Min. unregelmäſs. angestrengte Respir.; nach 39 Min. starke Speichelsekr., Augen geschlossen, Respir. sehr angestrengt, sie sinkt von 38 auf 18 (nach 205 Min.) Leichte Corneatrübung. Gewichtsverlust 10 %.	Die Katze nach 6 Tg. durch Chloroform getötet. Sektion: Lunge etwas ödematös, die Teile der Unterlappen infiltriert, luftleer, an d. Rändern etwas emphysematös. Trachea enthält etwas Flüssigkeit; Nase trocken; die vorderen Partien der Nasenmuscheln zeigen schwarzbraune Verfärbung, etwas Eiter; Epiglottis wenig ödematös, injiziert.
8	2,45	3.-4. St. 0,25	0,33	6	Katze 2755	Sofort Unruhe; Atmung durch d. geöffneten Mund, Husten; nach 1 Min. Speichelsekret.; Rhinitis, Conjunctivis, Respir. angestrengt; Augen geschloss., Tränen, Dyspnoe stark; Nase gerötet. Respir. anfangs 26, nach 50 Min. 16, nach 6 Std. 24 Gewichtsverlust 7 %.	Durch Chloroform getötet gleich nach d. Vers. Sektion: Starke Corneatrübung, Nase etwas feucht, die Ränder der Nasenlöcher zeigen Schleimhautanätzung; Trachea injiziert, enth. Schleim u. etwas schäumende blutige Flüssigkeit. Sehr starkes Emphysem der Lungen.

					Kaninchen 1178	Unruhe, Nasensekretion, Rhinitis, Anätzung der Cornea, Tränen; sehr wenig Speichel. Respiration sinkt v. 52 auf 24 (nach 170 Min.). Gewichtsverlust 2 %.	Durch Chloroform getötet gleich nach d. Vers. Sektion: Trachea hyperämisch, enth. etwas Flüssigkeit; Lunge wenig ödematös, infiltrierte Partien in der rechten Lunge.
9	1. St. 1,7	0,28	0,37	6	Katze 3150	Sofort Unruhe, Husten, Niesen; nach 1 Min. dünnflüssige Speichelsekret.; Atmung durch den Mund; nach 3 Min. Nasensekret.; nach 6 Min. Respirat. angestrengt, dyspnoetisch; sie sinkt von 26 auf 16 (nach 144 Min.). Nach 18 Min. starke Conjunctivitis; nach 25 Min. Tränen; nach 110 Min. Nase gerötet. Dyspnoe stark. Gewichtsverlust 8 %.	Die Katze nach 7 Tg. durch Chloroform getötet. Sektion: Die Nase hart u. trocken. Gangrän des Nasenseptum. Etwas Epiglottisödem. In den oberen Partien der cartilago thyreoidea: eitrige Masse von ziemlich harter Konsistenz, der Knorpel ist daselbst nekrotisch. Trachea blaſs. Lunge an d. Rändern stark emphysematös, unt. Lappen ödematös. Pleuritis fibrinosa. Corneatrübung.
	2.-3. St. 1,7	0,34	0,45				
	4.-5. St. 1,5	0,42	0,56				
	5.-6. St. 1,5	0,64	0,85				
10	1. St. 3,6	0,40	0,53	6,5	Katze 2820	Sofort starke Speichelsekr., nach 3 Min. starke Dyspnoe; Respirat. sehr unregelmäſsig, angestrengt, durch den geöffneten Mund, sie sinkt von 24 auf 16 (nach 27 Min.) Tränen, Augen zu; nach 360 Min. nimmt die Katze Seitenlage ein und stirbt nach 390 Min. Gewichtsverlust 13 %.	Sektion: Trachea injiziert; enthält Schleim, Bronchien auch. Lungen emphysematös, ödematös, in den Unterlappenpartien braunrot; Epiglottis ödematös; in den Nasenlöchern Schleim; Corneatrübung stark.
	2. St. 3,6	0,44	0,59				
	3. St. 3,6	0,52	0,69				
	4.-5. St. 3,2	0,68	0,91				
	6. St. 3,0	0,82	1,09				
11	1. St. 3,9	0,43	0,57	5,1	Katze 4030	Ähnlich wie Versuch 10. Tod nach 306 Min. Gewichtsverlust 7 %. Ausführliches Protokoll S. 321.	Sektion: Ganz ähnlich wie bei Versuch 10. Ausführliches Protokoll S. 321.
	2. St. 3,9	0,55	0,73				
	4.-5. St. 3,1	0,81	1,08				

1) Dieselben Tiere von Versuch 5.

Fortsetzung der Übersichtstabelle.

Nr.	Gehalt PCl_3 n. der direkt. Wägung (mg ‰)	Gehalt Cl (mg ‰) Nach d. direkt. Bestimmung	Gehalt Cl (mg ‰) Dies entspricht PCl_3	Versuchsdauer (Stunden)	Gewicht des Tieres (g)	Symptome während des Versuchs	Schicksal des Tieres nach dem Versuch
12	4,1	2. St. 0,7	0,93	4	Katze 3180	Sofort Unruhe, Speichelsekret. Atmung angestrengt, durch d. Mund; nach 29 Min. Tränen; nach 42 Min. Nase geröt., feucht; nach 58 Min. Respirat. angestrengt; starke Corneatrübung (opak); d. Ränder d. Nasenlöcher zeigen starke Schleimhautanätzung. Respirat. sinkt von 28 auf 20. Gewichtsverlust 9 %.	Tod nach 36 Std. Sektion: Trachea stark hyperämisch, enthält ziemlich viel Croupmembranen. Nekrose der Häute der Nase. Unterlappen stark dunkelrot, Hepatisation. Mittellappen hyperämisch u. etwas ödematös. Pleuritis fibrinosa. Lymphdrüsen infiltriert. Cornea opak.
		4. St. 0,8	1,07				
					Kaninchen 1210	Nach 15 Min. Niesen, Unruhe; nach 38 Min. Conjunctivitis; Nasensekret.; Augen zu; nach 118 Min. weiſses Sekret in den Augen; nach 130 Min. Corneatrübg. Gewichtsverlust 2 %.	—
13	1. St. 8,2	2,47	3,29	3	Katze 3345	Sofort Unruhe, Speichelsekret.; nach 1 Min. Atmung durch den Mund; die Katze streckt den Kopf nach oben empor; nach 11 Min. sehr unregelmäſsige Respirat.; sie sinkt von 28 auf 16; nach 141 Min. nimmt das Tier Seitenlage ein; nach 181 Min. Tod. Gewichtsverlust 7 %.	Sektion: Cornea stark trübe; Zungenepithel verätzt; ganze Lunge ödematös; etwas Randemphysem. Exquisite Laryngotrachcitis. Epiglottisödem. Lymphdrüsen infiltriert.
	2.-3. St. 8,2	2,90	3,87				
					Kaninchen 1050	Wie Versuch 12. Nach 184 Min. Tod. Gewichtsverlust 7 %.	Sektion: Starkes Lungenödem; etwas Emphysem der Oberlappen. Starker Katarrh der Nase. Anätzung der Zungenränder. Corneaanätzung.

4. Allgemeine Folgerungen aus den mit Tieren angestellten Versuchen.

Wie nach den Vorversuchen zu erwarten war, war im Anfang jedes Tierversuchs der Gehalt relativ klein und stieg allmählich. Je gröfser die verdunstete PCl_3-Menge, um so rascher näherte sich der faktische Gehalt dem theoretischen und einem konstanten Wert.

Als allgemeines Resultat der Tierversuche konstatiere ich die auch für andere Gase so oft zu beobachtende geringere Giftigkeit des PCl_3 für Kaninchen wie für Katzen.

Das PCl_3 mufs ohne Zweifel zu den Stoffen gerechnet werden, die in erster Linie in heftiger Weise die Schleimhäute der Tiere angreifen.

Bei mittlerem Gehalt von PCl_3 in der Luft verlaufen die hauptsächlichsten und typischsten Symptome für gewöhnlich in nachstehender Reihenfolge:

Nach einer kurzen Periode der Erregung, die sich durch Unruhe, Hin- und Herlaufen in der Kammer, Miauen (bei Katzen) äufsert, fangen die Tiere an zu niefsen, zu husten und sich zu belecken, worauf Speichelflufs (bei Katzen), Rhinitis und Conjunctivitis eintreten; der Atmungsrhythmus und Atmungstypus ändern sich in schroffer Weise; die Tiere werden traurig, sitzen bewegungslos mit geschlossenen Augen; die Atmung wird mehr und mehr unregelmäfsiger, die Tiere (Katzen) atmen durch den Mund, sitzen mit ausgestrecktem Kopfe; die Ausatmung wird dabei bedeutend erschwert und geschieht manchmal in Form von spastischen, kurzatmigen Bewegungen; unter starker Dyspnoe erfolgt schliefslich der Tod des Tieres, wenn die Menge der PCl_3-Beimischung eine bedeutende ist. Das ist wohl das allgemeine Bild der PCl_3-Wirkung. Wir wollen nun etwas ausführlicher die Wirkung der PCl_3-Dämpfe auf die einzelnen Organe des Tieres schildern.

Die erste und höchst typische Erscheinung, die bei den Tieren infolge der Einatmung von PCl_3-Dämpfen eintritt, ist die Speichelsekretion.

Dieselbe erfolgt für gewöhnlich während der ersten Versuchsminuten auch bei unbedeutenden Dosen von PCl_3, z. B.

nach 9 Minuten bei 0,004 ‰ und nach 5 Minuten bei 0,01 ‰; bei gröſseren Dosen aber, z. B. bei 0,3—0,5 ‰, tritt die Speichelsekretion schon beim Beginn des Versuchs ein.

Die Speichelsekretion beginnt für gewöhnlich mit dem Erscheinen eines flüssigen Speichels in Gestalt von Tropfen an den Mundwinkeln des Tieres; ein wenig später zeigt sich ein dicker, zäher Speichel, der sich ununterbrochen in Gestalt von Fäden vom Munde des Tieres bis an den Kammerboden zieht. Die Speichelausscheidung läſst gewöhnlich während des ganzen Versuches nicht nach; infolgedessen häuft sich auf solche Weise auf dem Kammerboden am Ende des Versuches eine bedeutende Menge dieser Flüssigkeit an. Es kann auch manchmal in manchen Versuchen folgende Erscheinung beobachtet werden: Die Ausscheidung des zähen Speichels läſst nach, worauf während einer bestimmten Zeit ein flüssigerer Speichel sich auszuscheiden anfängt, um wiederum einem zähen Platz zu machen. Die Wirkung des PCl_3 auf die Speicheldrüsen der Kaninchen muſs als sehr unbedeutend betrachtet werden: Denn nur am Ende eines der Versuche gelang es bei einer Dose von 0,33 ‰ die Ausscheidung von zwei bis drei Tropfen flüssigen Speichels beim Versuchstiere zu beobachten (Versuch 8).

Weitere typische und ständige Erscheinungen bei den Tieren betreffen die Atmungsorgane. Die reizende Wirkung des PCl_3 auf die Atmungsorgane äuſsert sich am Anfang des Versuches durch Anfälle von Niesen und Husten bei den Tieren. Ein wenig später tritt schon bei verhältnismäſsig kleinen Dosen von PCl_3, z. B. bei 0,03 ‰, ganz klar eine allmähliche Verlangsamung des Atmungsrhythmus zutage; infolgedessen atmen die Tiere am Ende des Versuches oder sogar inmitten des Versuches für gewöhnlich zweimal langsamer, als sie es am Beginn desselben tun. Kleinste Dosen von 0,004—0,01 ‰ machen bei Katzen noch keine besonderen Veränderungen im Atmungsrhythmus, während dieselben Dosen bei dem normalerweise rasch atmenden Kaninchen schon erhebliche Verlangsamung der Atmung hervorrufen (Versuch 1, 2, 3). Auf gröſsere Dosen von PCl_3 reagieren die Kaninchen durch starke Verlangsamung

der Atmung schon nach einigen Minuten nach dem Anfang des Versuches (Versuch 12, 13).

Mit der Verlangsamung der Frequenz geht, wie zu erwarten, eine Vertiefung der Atemzüge Hand in Hand, die langsame Respiration gestaltet sich später mühsam, die Luft wird mit Anstrengung eingeatmet und besonders fällt auf, dafs die Ausatmung oft in Absätzen erfolgt, durch krampfhafte Pausen unterbrochen.

Pathologisch-anatomische Veränderungen werden bei den Tieren nach den Versuchen am ganzen Atmungstrakt konstatiert. Dazu gehören vor allem Katarrh der Nasenschleimhaut schon bei einer Dose von 0,005‰, bei bedeutenderen Dosen PCl_3 gesellen sich dazu erhebliche Veränderungen der Schleimhaut der Nasenmuscheln und sogar nachträgliche Nekrosis des Nasenseptum; in ähnlichen Fällen werden für gewöhnlich auch Entzündungserscheinungen in der Nasenhaut im Umfang der Nasenlöcher sichtbar.

Die Epiglottis ist entzündet, manchmal stark ödematös. Eine sehr interessante Erscheinung ist bei einer Katze während der Obduktion sieben Tage nach dem Versuche gefunden worden (Versuch 9). An zwei Stellen des oberen Teiles der Cartilago thyreoidea wurden Anhäufungen einer eiterartigen Masse von der Gröfse einer Erbse und von ziemlich fester Konsistenz gefunden; an den Stellen, wo jene Anhäufungen sich befanden, waren die Knorpel nekrotisch zerfallen.

Die Trachea liefert für gewöhnlich Erscheinungen, die von einer heftigen Entzündung zeugen: sie ist injiziert, enthält Flüssigkeit, manchmal mit einer Blutbeimischung, und in einem Falle bei der Obduktion des Tieres am zweiten Tage nach dem Versuche ist in der Trachea eine Bildung von krupösen Häutchen konstatiert worden.

Erhebliche Veränderungen werden auch in den Lungen beobachtet. Dieselben sind für gewöhnlich, besonders an den Rändern emphysematös, einige Lappen sind öfters vergröfsert und hyperämisch oder liefern Erscheinungen der Hepatisation; manchmal findet man in den Lungen kleine Atelektasen und Ecchymosen.

Bei der Sektion der nicht unmittelbar nach dem Versuche, sondern erst nach einem bestimmten Zeitraum (Versuch 9 und 12) gestorbenen oder getöteten Tiere wird auch fibrinöse Pleuritis beobachtet.

Was nun die wesentlicheren Veränderungen in den übrigen Organen anbelangt, so müssen hier die Veränderungen in den Lymphdrüsen am Halse und die Veränderungen am Auge Erwähnung finden. Die Lymphdrüsen erscheinen bei gröfseren Dosen von PCl_3 (1 ‰) im Umfange vergröfsert und infiltriert. (Versuch 12 und 13.)

Die Cornea des Auges zeigt je nach der Dose des verwendeten PCl_3 verschiedene Grade von Trübung: von der Bildung kleiner diffuser Flecken an bis zum Übergang der Cornea in eine milchweifse, opake Substanz. Diese Trübung wird gewöhnlich nicht auf der ganzen Oberfläche der Cornea wahrgenommen, sondern lediglich an denjenigen Stellen, die während des Versuches nicht völlig vor den PCl_3-Dämpfen von den Augenlidern geschützt worden sind. Konjunktivitis tritt schon bei unbedeutenden Dosen PCl_3 (0,06 ‰) ein; in einem Falle ist Ausscheidung einer weifsen milchartigen Flüssigkeit in Form von Tropfen an beiden Augen wahrgenommen worden (Versuch 12). Letztere Erscheinung wnrde von Professor K. B. Lehmann bei Versuchen mit HCl-Dämpfen beobabchtet; die ausgeschiedene Flüssigkeit bestand nämlich gröfstenteils nach den Beobachtungen des Autors aus Fetteilchen. Die Tränendrüsen unterliegen auch der Wirkung der PCl_3-Dämpfe, die sich durch den Tränenflufs, der manchmal ziemlich bedeutend ist, äufsert (Dose 0,33 ‰, Versuch 8).

Was nun endlich den Verlust an Körpergewicht anlangt, nach dem man teilweise über die allgemeine Wirkung des PCl_3 auf den Tierkörper urteilen kann, so ist derselbe kein gleichmäfsiger und schwankt in den Grenzen zwischen 1 %—13 % des Gewichts. Dieser Gewichtsverlust hängt in erster Linie von der Speichelsekretion ab, Benetzung des Felles kann die Gewichtsabnahme zum Teil ausgleichen. Kaninchen, die kaum speicheln, zeigen eine viel geringere Abnahme als Katzen.

Alle hauptsächlichen Veränderungen, die in den Tierkörpern bei der Einatmung von PCl_3-Dämpfen vorgekommen sind, unter-

scheiden sich im wesentlichen sehr wenig von ähnlichen Veränderungen, die von Professor K. B. Lehmann bei Versuchen mit Einatmung von HCl-Dämpfen beobachtet und ausführlich im Jahre 1886 beschrieben worden sind.[1])

Nekrotische Veränderungen, die ich einmal am Kehlkopf gesehen habe, hat Herr Prof. K. B. Lehmann nur an der Nase beobachtet, von Schwellung der Lymphdrüsen ist in den Salzsäurenprotokollen nichts berichtet — Herr Prof. K. B. Lehmann sagte mir, dafs er darauf nicht geachtet habe. Es ist also nicht möglich, eine wirkliche Verschiedenheit im Bilde der HCl- und PCl_3-Vergiftung zu konstatieren.

Aber wenngleich keine besondere wesentliche qualitative Verschiedenheit in der Wirkung des PCl_3 im Vergleich zu der des HCl zutage tritt, so existiert doch zweifellos und eine ziemlich bedeutende quantitative Differenz in der Wirkung dieser beiden Stoffe.

Das PCl_3 ruft bei seinem Gehalt in der Luft von 0,013 bis 0,020 mg (oder 0,01—0,016 mg HCl) pro Liter schon in den ersten Versuchsstunden bestimmte oben angeführte krankhafte Erscheinungen und ernste Veränderungen in den Organen nach Beendigung des Versuches (Versuch 2 und 3) hervor, und nur geringere Dosen, wie z. B. 0,004—0,005 (in 3 Stunden) oder 0,003—0,004 mg HCl (Versuch 1) scheinen wirkliche Zerstörungen im Tierkörper nicht nach sich zu ziehen. In dieser Hinsicht erweisen sich die HCl-Dämpfe weniger wirksam, denn selbst ein Gehalt von 0,16 mg bewirkt lediglich Speichelsekretion bei den Tieren, andere Symptome aber pflegen bei diesen Dosen ganz zu fehlen.

Es versteht sich von selbst, dafs mit dem Steigen der Dose PCl_3 auch die entsprechenden Symptome und Erscheinungen rascher und auch in schwerer Form im Tierkörper hervortraten.

Der tödliche Ausgang, der im Zeitabschnitte von 5—36 Stunden nach Beginn des Versuches erfolgte, wurde durchschnittlich bei der Dose von ca. 0,8 mg PCl_3 (oder 0,62 mg HCl) pro Liter

1) Archiv f. Hygiene, V.

beobachtet; bei 3,5 mg PCl_3 (oder 2,7 mg HCl) aber erfolgte der Tod schon nach 3 Stunden (Versuch 10, 11, 12, 13). Es ist ziemlich schwer, diese Dosen genauer festzustellen, denn der PCl_3-Gehalt in der Luft ist in den einzelnen Versuchsstunden kein gleichmäſsiger. In den Versuchen des Herrn Prof. K. B. Lehmann mit HCl wurde der tödliche Ausgang bei Katzen bei einer Dose von 8,2 mg Cl nach 12 Minuten beobachtet. (Die Katze war vor dem Versuche chloroformiert); indessen bei Kaninchen der Tod erst nach 5—5½ Tagen infolge der Wirkung von 5,6 mg HCl während 1½ Stunden und von 9,2 mg pro Liter während 3¾ Stunden erfolgte; endlich trat in einem Versuche mit einem Kaninchen nach 24 Stunden der Tod ein, nachdem eine von 4 mg bis zu 7,3 mg HCl pro Liter steigende Dose während 4 Stunden 40 Minuten eingewirkt hatte.

Herr Prof. K. B. Lehmann hat in seiner Arbeit über 5 Katzenversuche berichtet, zur Vermehrung des Materials habe ich noch drei weitere angestellt, die sehr gut zu denen von Herrn Prof. K. B. Lehmann passen.

Ich teile die acht Versuche in einer kleinen Tabelle mit.

(Siehe Tabelle auf Seite 333.)

Wenn wir versuchen, die Intensität der Wirkung der als Salzsäuredampf zugeführten »präexistierenden« Salzsäure zu vergleichen mit der Wirkung der aus Phosphortrichlorid entwickelten (»abgespaltenen«) Salzsäure, so kommen wir leicht zu dem Resultat, daſs die abgespaltene Salzsäure etwas stärker wirkt als die präexistierende. Es ist aber sehr schwer, quantitativ anzugeben, in welchem Verhältnis die abgespaltene stärker wirkt als die präexistierende. Legen wir die Versuche mit schwächstem Gehalt zugrunde, so kann man zu dem Resultat kommen, daſs die präformierte fast zehnmal schwächer wirkt als die abgespaltene. Aus den Versuchen mit mittleren Dosen könnte man etwa ableiten, daſs 0,26 abgespaltene Salzsäure so stark wirkt wie 1,44 präformierte und 0,8 abgespaltene etwa wie 5,4 präformierte. Es ist also die Giftwirkung der abgespaltenen Salzsäure bei höheren Dosen etwa 5—6mal, bei niedrigen

Nr.	Autor	mg H Cl pro Liter	Versuchsdauer in Std.	Tier	Symptome während des Versuchs	Ausgang	Pathologisch-anatomische Veränderungen
1 u. 2	Prof. Dr. K. B. Lehmann (1) Dr. P. Butjagin	0,16 0,16	1) 6 2) 5	A. Fast erwachsene Katze B. Erwachsene Katze, 2950 g	Leichte Nasensekret. nach 50 Min. Speichelsekretion; geringe Veränderungen d. Atmungsrhythmus.	Verlust des Gewichtes beträgt 2 %. Nach Herausnahme normal.	
3	Dr. P. Butjagin	0,26	5	Erwachsene Katze 2720 g	Sofort Unruhe, Niesen; n. 10 Min. Speichelsekretion; nach 20 Min. unregelmäfsige Respiration.	Der Verlust des Gewichtes gleich 3 %.	
4	Dr. P. Butjagin	0,45	3,5	Grofse Katze 3650 g	Sofort Unruhe, Speichelsekr.; angestrengte Respir. durch den Mund; Niesen; später Nasensekretion, unregelmäfsige Respiration; Augen geschlossen.	Verlust d. Gewichtes beträgt 7 %. Nach 5 Tg. durch Chloroform getötet.	Lungen kollabieren, an d. Rändern etwas emphysematös; Trachea injiziert, enthält etwas schaumige Flüssigkeit. Nekrose der Nasenknorpel.
5	Prof. Dr. K. B. Lehmann	1,44	6	Sehr alte grofse Katze	3stündige Speichelsekret. Augen meist geschlossen. Keine wesentl. Dyspnoe. Letzte Stund. etw. seporös.	Sofort nach Versuch durch Chloroform getötet.	Leichte Corneatrübung im Lidspaltengebiet. Etwas Hyperämie des unteren Lungenlappens. Leichte Verfärb. d. Nasenskeletts.
6	Prof. Dr. K. B. Lehmann	1. Std. 0,75 folg. 5 Std. 1,6	6	Erwachsene kräftige Katze	Sympt. fast genau wie bei 4. Nach 3 Std. eine Zeitlang ziemlich starke Nasensekr. Leichte Cornearötung.	Erholt sich in einig. Tagen vollkommen.	
7	Prof Dr. K. B. Lehmann	5,44	1,5	Halbwüchsige Katze	Heftig. Schmerzen. Anhalt. dünnflüssige Speichelsekr. Brechbewegungen. Nase blafs. Schleimhautpartien in der Nähe des Septum zeigen trockene Krusten.	Sofort mit Chloroform getötet.	Etwas Emphysem d. Oberlappen der Lunge. Zahlreiche miliare Blutungen in der Lunge. Corneaanätzung. Etwas Epiglottisödem.
8	Prof. Dr. K. B. Lehmann	8,0	0,2	Grofse Katze	Wird in tiefer Chloroformnarkose in d. Kast. gesetzt. Stirbt ohne Speichelsekr.		

Dosen bis zehnmal stärker als der präformierten. Wollte man genauere Resultate haben, so müfste namentlich die Zahl der Salzsäureversuche noch stark vermehrt werden und vor allem müfsten Versuche bei einer Anordnung erdacht werden, bei denen der Gehalt an Phosphortrichlorid konstanter bleibt, als wie es bei mir der Fall war. Vielleicht wäre dies möglich dadurch, dafs man den Kasten erst längere Zeit mit Phosphortrichloriddampf durchströmte und dann erst das Tier hineinsetzte.

Wenn wir uns fragen, warum Phosphortrichlorid stärker wirkt als die daraus abgespaltene Salzsäure, so können wir einmal annehmen, dafs Phosphortrichlorid als solches eine besondere Wirkung besitze. Es ist mir dies aber nicht wahrscheinlich. Vielmehr möchte ich glauben, dafs die stärkere Wirkung dieses Präparates daher kommt, dafs es zu seinem Zerfall zu phosphoriger Säure und Salzsäure Wasser braucht, das es den Schleimhäuten entzieht. Es ist durch diese Überlegung eine intensivere Wirkung des Phosphortrichlorids gegenüber der Salzsäure ohne weiteres klar. Warum diese Wirkung bei kleinen Dosen auffälliger, bei grofsen Dosen schwächer hervortritt, vermag ich allerdings nicht mit Sicherheit zu erklären, wenn ich nicht annehmen will, dafs die Schleimhäute nicht imstande seien, mehr wie eine gewisse Menge PCl_3 in der Zeiteinheit zu zerlegen.

Wendet man zum Schlufs auf die von mir erhaltenen Daten das von Prof. K. B. Lehmann vorgeschlagene Schema zur Beurteilung der wichtigsten Giftbeimischungen, die in der Luft der Fabrikräume vorkommen, an, so erhält man folgende Verhältnisse:

1. Das PCl_3 ruft bei seinem Gehalt in der Luft von circa 0,004 mg pro Liter verhältnismäfsig nur kleine Krankheitserscheinungen bei Beobachtung der Tiere während 6 Stunden hervor.
2. Eine Konzentration von 0,01—0,02 mg pro Liter bedingt noch nicht das Erscheinen schwerer Symptome im Verlaufe von 1 Stunde.

3. Der PCl_3-Gehalt in der Luft an 0,3—0,5 mg pro Liter ruft schon schwere Zerstörungen im Tierkörper im Verlaufe der ersten Beobachtungsstunden hervor.
4. Tödlicher Ausgang wird beim Tiere bei PCl_3-Gehalt an 3,5 ‰ mg beobachtet, wobei der Tod schon nach drei Stunden erfolgt.

Ich erachte es für meine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meine innige Dankbarkeit dem hochverehrten Herrn Prof. K. B. Lehmann auszudrücken für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit, sowie auch für die schätzbaren Ratschläge, die derselbe mir während der Arbeitsausführung stets zuteil werden liefs.

Bedeutung der Farbe in der desinfizierenden Wirkung der Lacke.

Von

Dr. O. Tonzig,
I. Assistent.

(Aus dem hygienischen Institute der Königl. Universität Padua. Direktor: Prof. A. Serafini.)

Aus den von Deyke, Heimes, Bosco, Jacobitz, Rapp und Lydia Rabinowitsch gewonnenen Resultaten weifs man von der zerstörenden Wirkung der verschiedenen, zur Bekleidung der Wände unserer Wohnungen verwendeten Materialien, auf die sich dort niederlassenden Bakterien, welche Wirkung bereits ganz richtig mit der Selbstreinigung der Wände bezeichnet worden ist.

Diese Wirkung ist bisweilen so rasch und sicher, dafs der Hygieniker darauf rechnen kann, auch wenn es sich um die Bekleidung von Wänden handelt, die leicht einer Verunreinigung ausgesetzt sind, wie in Krankenhäusern, Schulen, Laboratorien, Schlafsälen usw., auch deshalb, weil sie beständiger ist und so mehr ihrem Zweck entspricht als die gebräuchlichsten Desinfektionsprozesse, z. B. jene, welche sich nur in Zwischenräumen von längerer Dauer ausführen lassen, als es der Leichtigkeit und Häufigkeit der Verunreinigung entspricht.

Wenn wir einige besondere Bekleidungen, die, wie Damaste, Zeuge, Holzwerk, echter und künstlicher Marmor usw., des Kostenpunktes wegen sich nicht allgemeinen Gebrauches erfreuen, aufser

acht lassen, so finden wir als die gebräuchlichsten: Farben, mit einer sehr verdünnten Leimlösung angemacht, Tapeten und Lacke.

Die Autoren, die sich mit dem Gegenstand befaſsten, haben sämtlich zum Schlusse kommen müssen, daſs der Hygiene am besten Anstriche von guten Lacken entsprechen, und nachdem jeder von ihnen Lacke von verschiedenen Fabriken einem Studium unterzogen, hat sich durch ihre Untersuchungen herausgestellt, daſs die mikrobenvernichtende Wirkung manchmal bei den Emaillacken vorherrscht, dann wieder bei den Firnissen und Porzellanemaillacken, und daſs auch hier die Leimfarben erst in zweiter Linie kommen.

In der Tat weist Deyke[1]) nach, daſs die Lebensdauer von verschiedenen Mikroorganismen auf der Oberfläche des Anstrichs von Lack-Amphibolin I und II (aus der Fabrik Hamburger Amphibolin-Farbwerke, C. Gluth), von einer Ölfarbe, einer Kalkfarbe und einer Leimfarbe sich verhält wie 1 : $1^1/_2$: 3 : 5.

Heimes[2]) findet die Lebensdauer im Verhältnis von 1 : $2^1/_2$: 5 : 10 und zwar 1 für eine Ölfarbe und den Zoncalack (aus der Fabrik Zonca & Ko., Kitzingen a. M.), $2^1/_2$ für eine Emailfarbe und Amphibolin, 5 für eine Kalkfarbe und 10 für eine Leimfarbe.

Jacobitz[3]) hat Versuche angestellt mit zwei Porzellanemailfarben (Pef. 2097 und Pef. 2098), zwei Olfarben (Zinkweiſs und Bleiweiſs), sämtliche vier Farben von der Fabrik Rosenzweig & Baumann, Kassel, ferner mit dem Zoncalak Nr. 101 (Zonca & Ko., Kitzingen a. M.) und einem Porzellanemaillack Pef. 2092 von ersterer Fabrik, viertens mit einem Porzellanemaillack Pef. 2093, mit dem Amphibolin der Amphibolinfarbwerke Ernsthofen, dem Hyperolin von Deiniger, und einer Leimfarbe, und dabei gefunden, daſs die Lebensdauer der Mikroorganismen

1) Deyke, Über die Absterbebedingungen pathogener Keime auf gewissen Anstrichfarben. (Centralbl. f. Bakteriol., Bd. XXIII, S. 1033—1081.)

2) Heimes, Über das Verhalten der Anstrichfarben zu den pathogenen Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr., 1899, Nr. 11.)

3) Jacobitz, Über desinfizierende Wandanstriche. (Zeitschr. f. Hyg., 1901, Bd. XXXVII, S. 70.) — Ders., Über desinfizierende Wandanstriche. (Hygien. Rundschau, 1902, I, 12, Nr. 5, S. 70.)

bei den vier Gruppen dem Verhältnis von 1 : 2 : 8 : 70 und 8 entsprach.

Bosco[1]) beobachtete höher desinfizierende Energie bei Wänden mit Glanzstuck und Emaillack (Ernesto Ratti & Ko., succ. Ratti e Paramatti, Turin), geringere bei solchen mit Tapeten; an letzter Stelle kamen die Temperafarben, die einfache Übertünchung und die Leimfarben.

Rapp[2]) stellt eine gröfsere Desinfektionsenergie in einer Emailfarbe 2097, 2098, B. X, Io (von der Fabrik Rosenzweig & Baumann, Kassel) und in dem Zoncalack Nr. 101 fest als in den Emailfarben der Fabriken Finster & Meisner, München; Fritze & Ko., Offenbach; Schachinger, München.

Lydia Rabinowitsch[3]) bringt im Hinblick auf die desinfizierende Wirkung die von ihr erprobten Materialien, vom stärkst bis zum geringst wirkenden, in die folgende Abstufung: Porzellanemailfarben (Rosenzweig & Baumann, Kassel) und Emailfarbe (Horn & Frank, Berlin), Pefton Nr. 45168 (Rosenzweig & Baumann, Kassel) und Zoncalack, Hyperolin (Deiniger), zinkweifse Ölfarbe und bleiweifse Ölfarbe (Hersterberg & Berstein, Berlin), Amphibolin (Hamburger Amphibolinfarbwerke, C. Gluth) und weifse Wasserfarbe.

Alle Autoren also kommen bei Anwendung der verschiedenen Bekleidungsmittel zum Schlusse, dafs einige derselben eine energischere Aktion entfalten, jedoch sieht man, wie auf den Oberflächen, die mit Emaillacken, Porzellanemaillacken und Firnissen bedeckt sind, wodurch der Oberfläche Solidität, Glanz und Undurchdringlichkeit gegeben wird, die Mikroorganismen, die dorthin gelangen, weniger Widerstand haben.

---

1) Bosco, Le pareti delle case come mezzo di conservatione e propagazione dei batteri patogeni. (Lavori di laboratorio dell' Istituto di Igiene di Palermo, 1898, p. 207.)

2) Rapp, Untersuchungen über desinfizierende Wandanstriche. (Apotheker-Zeitung, 1901, Nr. 86.)

3) Lydia Rabinowitsch, Über desinfizierende Wandanstriche mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkulose. (Zeitschr. f. Hygiene, 1902, Bd. 40, S. 529.)

Die verschiedenen Autoren haben sich bemüht, die Ursache der wichtigen Erscheinung aufzuklären, und während einige sie der Tatsache zuschreiben wollten, dafs die bestrichene Oberfläche homogen wird und die Löcher verschwinden, in denen die Mikroorganismen sich in Sicherheit vor den verschiedenen Agentien, welche sich gegen sie schädlich erwiesen haben, einnisten können, schieben sie andere einer mehr inneren Aktion des Anstrichs selbst zu, d. h. der Bildung von chemischen Substanzen, welche von den verschiedenen Bestandteilen des Lackes freigegeben werden, und denen die Kraft zukomme, die Lebensfähigkeit der Keime zu beeinträchtigen.

Tatsächlich sind Bosco und Deyke der ersten Meinung, während Heimes die zweite teilt.

Jacobitz glaubt sogar, indem er erinnert, wie Kifsling[1]) gezeigt habe, dafs das Leinöl, welches zur Zusammensetzung der kräftigsten Lacke dient, beim Austrocknen einem langsamen Oxydationsprozesse unterliegt, in welchem zugleich mit dem Verbrauch von Sauerstoff sich die Bildung von Kohlensäure, Wasser und flüchtigen Fettsäuren ergibt, welche den niederen Säuren der Metanreihe zuzuschreiben ist (Ameisen-, Essig-, Butter-, Baldrian- und Propionsäure), dafs man in diesen Vermittelungsprodukte habe und zwar die Aldehyde, unter diesen das Ameisenaldehyd. Die desinfizierende Wirkung von diesen ist genugsam bekannt, um ihnen, auch wenn sie sich nur in kleinster Menge bilden, eine Anteilnahme mit den anderen Produkten an der uns hier interessierenden Erscheinung zuschreiben zu können.

Die Lacke, welche sich als Anstrichsmaterial im Handel befinden, um damit den Wänden eine glatte, glänzende und undurchdringliche Oberfläche zu verleihen, sind von verschiedenartiger Zusammensetzung, es lassen sich aber zwei grofse Kategorien unterscheiden (Fornari U.)[2]):

1. Öllacke,
2. Harzlacke.

1) Kifsling, Über die Ermittelung der Oxydationsfähigkeit von Leinölfirnis (»gekochtem Leinöl«). (Zeitschr. f. angew. Chemie, 1898, S. 361—362.)

2) U. Fornari, Vernici, lacche, mastici ecc. Milano. U. Hoepli, 1893.

Die Öllacke werden aus trocknenden Ölen gebildet, d. h. aus Ölen, die eine besondere Behandlung erfuhren, um einer starken Oxydation ausgesetzt zu werden. Die Harzlacke bestehen aus verschiedenen, in trocknenden oder ätherischen Ölen aufgelösten Harzen, weshalb fette und flüchtige Lacke unterschieden werden.

Mit diesen flüssigen Materialien von verschiedener Dichtigkeit werden die Farben angemacht, welche den Lacken die verschiedenen gebräuchlichen Nuancen zu geben haben (Gorini-Appiani).[1])

Diese Farben können mineralische, natürlich organische oder künstlich organische sein.

Zu letzteren gehört die grofse Reihe der Teerfarben, die wegen ihrer Eigenschaft, den Lacken lebhafte Farben von Metallglanz zu verleihen, bisweilen unter ganz besonderen Umständen verwendet werden. Da aber die Dauerhaftigkeit der mit ihnen gewonnenen Lacke eine sehr beschränkte ist, so haben die Fabrikanten sie heutzutage fast ganz aufgegeben und verwenden nur mehr mineralische oder natürlich organische Farben.

Keiner der bis jetzt erwähnten Autoren hat sich gelegentlich seines Studiums über die Wirkung der verschiedenen Lacke bei der Betrachtung der Natur des Farbstoffs aufgehalten, der mit der Flüssigkeit, die den Lack selbst darstellt, angemacht wird. Erst bei der Korrektur der Abzüge dieser Arbeit wurde meine Aufmerksamkeit auf einen Bericht über mehrere Versuche gerichtet, die der Russe Broschniowsky[2]) in seiner Petersburger Dissertation 1901 veröffentlicht hat, der aber nur auf die Wirkung einiger Farben Bezug nahm und zwar gerade auf Weifs, Schwarz, Rot und Violett, mit Versuchsergebnissen, die zu meiner Genugtuung die meinen stützen. Jener Autor hat auch das Verhältnis von 1 : 2 : 5 : 7 für die Dauer der folgenden von ihm verwendeten Bekleidungsmittel festgestellt: eine Ölfarbe, eine Emailfarbe, eine Leimfarbe und eine Tapete.

1) Gorini-Appiani, Colori e vernici, Milano, U. Hoepli, 1896.

2) Broschniowsky, Über die Einwirkung verschiedener Unterlagen auf die Lebensfähigkeit der Bakterien. (Petersburger Dissertation, 1901.)

Ich war der Anschauung, dafs das Studium dieser Wirkung nicht übergangen werden dürfe und zwar aus dem Grunde, weil die verschiedenen Farbstoffe vor allem eine verschiedene chemische Zusammensetzung aufweisen, aufserdem weil sie durch Aufsaugen verschiedener Lichtstrahlen, im Oxydationsprozesse der Lacke und in der Vernichtung der Keime, die auf ihnen abgelagert sein können, eine verschiedene chemische Wirkung erzeugen können. Ich habe mir deshalb vorgenommen, auf dem Wege des Experiments folgende Probleme zu lösen:

1. Welche Bedeutung kommt — angenommen, dafs ein Lack die Eigenschaft besitze, die Bakterien zerstören zu können — dem Farbstoff zu, der dem Lack die Nuance verleiht?

2. Angenommen, dafs eine Verschiedenheit bei den verschiedenen Farben besteht, ist diese auf eine chemische Wirkung zurückzuführen oder der physischen Wirkung des Aufsaugens der verschiedenen Strahlen des Spektrums?

Die Wahl der Farben für die Wände geschieht heutzutage bei Schulen, Laboratorien usw. unter Berücksichtigung der Augenhygiene, wobei diejenigen ausgeschlossen werden, welche die Ursache von Störungen in der Lichtreflektion bilden können; bei Ambulatorien, Operationssälen, Ställen für Versuchstiere, auch unter Berücksichtigung der Widerstandsfähigkeit der Farben gegen häufige Waschungen und Verunreinigungen.

Sollte nun aber der Farbstoff des Lacks auf die mikrobenvernichtende Wirkung jenen Einflufs ausüben, den ausfindig zu machen ich mir vorgenommen habe, so ergäbe sich, dafs bei der Auswahl der Farben für die Wände es auch von gröfster Bedeutung wäre, aufser den obenerwähnten Erwägungen sich vom Gesichtspunkt der Hygiene aus die Frage der Erleichterung vor Augen zu halten, dessen, was wie wir gesehen haben, mit der Selbstreinigung der Wände bezeichnet worden ist.

Zum Zweck des mir vorgenommenen vergleichenden Studiums der verschiedenen Farben, welche zur Zusammensetzung der Lacke dienen können, habe ich mir hiervon verschiedene Qualitäten aus mehreren Fabriken kommen lassen, da ich es für wahr-

scheinlich hielt, dafs die verschiedenen Fabriken zur Herstellung ein und desselben Lackes ein und dieselbe Lösungsflüssigkeit verwenden, der sie dann die verschiedenen Farben beigeben.

Fast jede Fabrik erklärt sich bereit, Lack von jeder beliebigen Farbennuance gegen eingesandtes Muster zu liefern, anderseits bin ich der Anschauung, dafs die Farben der für die Wände zur Anwendung kommenden Lacke von der gröfsten Mannigfaltigkeit sind, insbesondere was die Decke und die unteren Randeinfassungen der Wände betrifft, die manchmal einen bedeutenden Teil der Fläche einzunehmen pflegen.

Es ist jedoch angezeigt, darauf Bedacht zu nehmen, dafs diese mannigfaltigen Farbenabstufungen teils auf verschiedene Mischungen von mehreren Farbstoffen zurückzuführen sind und dann zusammengesetzte Farben genannt werden, um sie von den einfachen zu unterscheiden, die aus einem einzigen Farbstoff hergestellt sind. Die Maler wissen, dafs mit drei Farben, nämlich Grün, Gelb und Rot, sich alle Farben des Farbenbretts zusammensetzen lassen, indem man für die Zwischenfarben Weifs und Schwarz dazugibt. Diesen fünf Farben, die den Namen Grundfarben führen, entspricht eine Menge von Substanzen und diese sind es, welche zur Herstellung der Lacke verwendet werden. Überdies werden für die Farben Rot und Orange, Violett und Braun, die, wie vorhin erwähnt, auch aus einer Mischung der Grundfarben herrühren können, auch andere Substanzen benutzt.

Ich habe nun, um mich nicht in der Menge der Farben und Farbenabstufungen zu verlieren, unter Ausschlufs des Violetts, das nach meinem Dafürhalten bei Wandanstrichen keine Verwendung findet, folgende sieben Farben einem Studium unterzogen:

Schwarz, Weifs, Rot, Grün, Braun, Gelb, Blau.

Ich trachtete also, mir im Handel Lacke von verschiedenen Fabriken, die diesen sieben Farben entsprachen, zu verschaffen und hatte so:

1. den Psicroganomalack von Ratti Ernesto successore a Ratti e Paramatti, Turin;

2. den Ripolinlack der Société de Peinture Laquées, Paris-Amsterdam;

3. den Cromolinolack von Marinetti & Cia., Mailand.

Von letzterer Fabrik konnte ich Braun und Gelb nicht beziehen.

Diese Lacke breitete ich auf mit Hobel und Stahlklinge geglätteten Tannenbrettchen aus, wobei ich je zwei Anstriche machte, um eine vollständig bedeckte Oberfläche zu haben. Dieselben Lacke breitete ich hierauf auf Glastafeln aus, ebenfalls in zwei Anstrichen zum gleichen Zwecke.

Jede Probe wurde mit zwei Exemplaren gemacht, auch ein Teil des Brettchens zur Kontrolle ohne Lack gelassen; die Versuchsstücke wurden wenigstens 15 bis 20 Tage in einem ventilierten Raum von gewöhnlicher Temperatur in vertikaler Lage gehalten, um alles den gewöhnlichen Bedingungen anzupassen.

Nach Verlauf jener Zeit waren die Lacke vollständig getrocknet, d. h. sie strömten keinen Geruch mehr aus und blieben auch bei verlängertem Druck nicht am Finger haften.

Auf dieser so getrockneten Fläche breitete ich dann, wie wir sehen werden, das Versuchsmaterial aus.

Da ich mir die Aufgabe gestellt hatte, herauszufinden, ob in der mikrobenvernichtenden Wirkung der gebräuchlichsten Lacke der Farbstoff, welcher ihnen die Nuance verleiht, eine Bedeutung habe und ob die Farbe ihre Wirkung auf physischem und chemischem Wege ausübe, nahm ich zwei Arten von Experimenten vor. Das eine Experiment zielte dahin, bei der zur Untersuchung stehenden wichtigen Erscheinung die chemische Wirkung des Lacks auszuschalten, indem die Versuchskeime der ausschliefslichen Wirkung der von den verschiedenen Farben zurückgeworfenen Lichtstrahlen ausgesetzt wurden, während das andere darauf gerichtet war, die Wirkung der Anstrichsflüssigkeit von jener der Anstrichsfarbe zu trennen.

Zum Studium der ersteren Art und überdies zum Vergleich der Wirkung des Lacks bei freiem Licht und in der Dunkelheit wurden die Versuchskeime auf der Oberfläche von sterilisierten

Deckgläsern ausgebreitet und diese mittels kleiner Nägel an der lackierten Fläche angebracht, die verunreinigten Seiten teils gegen die Fläche selbst, teils gegenüber gekehrt.

Zur Untersuchung der zweiten Frage hätte ich von den Fabrikanten der verschiedenen Lacke die Materialien beziehen müssen, womit jene ihre Lacke zusammensetzen; die Schwierigkeit aber, der ich begegnet wäre, wenn ich die Fabrikationsgeheimnisse hätte erforschen müssen, veranlafste mich zur Selbstherstellung eines Lacks, womit ich meine Untersuchungen vervollständigen konnte.

Den Anweisungen des Fornarischen Handbuchs folgend stellte ich einen fetten Lack zusammen, der wegen seiner Elastizität, Dauerhaftigkeit und seines Glanzes sehr beliebt ist.

Zur Bereitung desselben wusch ich zunächst das harte Kopalharz gehörig mit Kalilauge und Wasser, trocknete es dann ab und zerstiefs es; hierauf machte ich es flüssig, gab langsam unter beständigem Umrühren heifses Leinöl hinzu und nachdem ich das Ganze hatte erkalten lassen, etwas Terpentinöl in bestimmter Quantität.

Ich hatte damit die Flüssigkeit fertig, womit ich die verschiedenen Farbstoffe ansetzte.

Ich hätte eigentlich die lange Reihe der anorganischen Farben durchgehen sollen, die den von mir gewählten Lackfarben entsprechen; aber die Fachschriftsteller selbst geben zu, dafs der Brauch, die Fabrikationserfahrung, die Rücksicht auf Ersparung und Dauerhaftigkeit viele der Farbstoffe ziemlich in die zweite Linie rückten, um einigen den Vorzug einzuräumen, die ich hier aufzähle und die bei meinen Untersuchungen verwendet wurden.

Für Weifs . . Bleiweifs oder kohlensaures Bleioxyd,
» Schwarz . Kienrufs,
» Rot. . . . Chromrot,
» Grün . . . Chromgrün,
» Gelb . . . Chromgelb,
» Braun . . Umbra,
» Blau . . . Ultramarinblau.

Diese Farben wurden sorgfältig in einem Mörser im Verhältnis von 1 : 2,5 : 3 zur Flüssigkeit angemacht, mit Ausnahme von Kienschwarz, das im Verhältnis von 1 : 9 angesetzt wurde.

Dieselben Farben wurden in Wasser gelöst und wie die Lacke auf der Oberfläche der Brettchen und Glastafeln ausgebreitet, sodann den gleichen Bedingungen ausgesetzt wie die Lacke.

Auf all diesen lackierten und kolorierten Flächen wurden, wie bereits erwähnt, die Versuchskeime ausgebreitet, die für die ersten Proben drei waren, nämlich Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus pyocyaneus und Typhusbazillus. Ich unterliefs die Probe mit widerstandsfähigeren Keimen, wie Sporen, die bereits von anderen angestellt wurde, wie ich mich auch im Verlaufe der Untersuchungen auf die Verwendung von nur zwei Mikroorganismen oder nur einem beschränkte, wozu ich durch den grofsen Umfang des Materials und die Zahl der Aufnahmen, die ich täglich hätte machen müssen, genötigt wurde. Anderseits gestattete mir dies der vergleichende Charakter meiner Forschungen ohne Beeinträchtigung der Resultate.

Die zur Verwendung gelangenden Keime wurden auf der Oberfläche von geneigtem Agar zur Entwicklung gebracht; als der Zeitpunkt zum Gebrauch gekommen war, wurde die von ihnen gebildete Schicht im Kondensationswasser des gleichen Agars aufgelöst, um in der Flüssigkeit eine ziemlich dichte Bindung von Keimen zu haben. Dieses Material wurde auf der Oberfläche des Lacks ausgebreitet, und zwar mit vorher im Schnellkocher sterilisiertem Pinsel aus den Haaren des sibirischen Eichhorns.

In gleicher Weise wurden die Keime auf der Oberfläche der nicht lackierten Brettchen und der Glastafeln ausgebreitet.

Von jedem Lack und jeder Farbe wurden zwei Muster hergestellt, wovon das eine in einem geschützten Raum des Instituts in vertikaler Lage dem Lichte ausgesetzt wurde, während das andere in gleicher Lage in einer vollständig dunklen Kammer aufbewahrt wurde.

Die Aufnahme über den Zustand des Prüfungsmaterials wurde zum erstenmal $^1/_2$ Stunde nach dessen Ausbreitung gemacht, um

sicher zu sein, daſs die Keime gleichmäſsig auf der zu untersuchenden Fläche verteilt seien, und wiederholte sich dann alle 24 Stunden, mit Ausnahme von Spezialfällen, für die je nach Bedürfnis die Aufnahme in kürzeren oder längeren Zwischenräumen vorgenommen wurde.

Die Aufnahme für die auf Brettchen gestrichenen Lacke geschah in der Weise, daſs mittels eines sterilisierten Messers ein Teil der Lackschicht samt einer dünnen Schicht des darunterliegenden Holzes losgemacht wurde; diesen Span lieſs ich in Fleischbrühe oder Agar fallen. Letzteres geschah auch mit den aus Glasplatten gestrichenen Lacken, die abgeschabt wurden.

Die chromogene Eigenschaft der von mir verwendeten Keime gestattete ihre Erkennung auch dann, wenn im Kulturentubus, was allerdings nur selten vorkam, die Entwicklung von anderen Keimen stattgefunden hatte, die allenfalls wenige Augenblicke vor der Aufnahme auf Oberfläche des Lacks abgelagert worden waren. In zweifelhaften Fällen habe ich die Schichten mit den derart verunreinigten Kulturen in Agar gebracht, um den Versuchskeim festzustellen.

Um den Zweifel auszuschlieſsen, daſs der in den Kulturentubus gebrachte Lack als Antiseptikum wirken und die Entwicklung der auf ihm abgelagerten Keime verhindern könnte, wurden alle von mir verwendeten Bakterien zuerst in Fleischbrühtuben zur Entwicklung gebracht, in die ich gleichzeitig lackierte und an der Luft getrocknete Glasglocken setzte. Die Entwicklung der Versuchskeime war in solchen Fällen immer eine günstige.

Schlieſslich habe ich nicht unterlassen, einen Versuch über die Lackwirkung zu machen, lange Zeit nachdem der Anstrich erfolgt war. Dies schien mir von gröſster Bedeutung, insofern der Lack gerade an der Oberfläche der Wände der bewohnten Räume meistens sich in solchem Zustande befindet, auſserdem, da seine Wirkung in derartiger Beschaffenheit nur von Jacobitz untersucht worden war und zwar nur 5½—10 Wochen, und einmal 4 Monate nach erfolgtem Anstrich.

Ich dagegen habe die Versuchskeime 11 Monate nachdem der Lackanstrich erfolgt war aufgelegt, wobei die Brettchen in

sehr ventilierter Lage gehalten worden waren. Der Farbencharakter, die Festigkeit und die Oberfläche der beiden von mir verwendeten Lacke, Psicroganoma und Ripolin, wiesen in diesem Zeitpunkt keine sichtliche Veränderung auf.

Experimente mit den übrigen Lacken unterliefs ich, ebenso die Gegenprobe in der Dunkelheit, da sie durch meine vorausgegangenen Versuche sich als überflüssig erwiesen hatten.

Die Resultate der verschiedenen Proben sind in den folgenden Tabellen niedergelegt, wobei für jeden Lack und jede Farbe die Entwicklungen des Keims im Tageslicht und in der Dunkelkammer gegenübergestellt sind.

Widerstandsdauer der auf den verschieden gefärbten lackierten Oberflächen aufgetragenen Keime, in Tagen (T) und Stunden (St). (L = Licht, D = Dunkelheit.)

I. Versuch.

Psicroganoma-Lack, am 1. April 1902 auf Brettchen gestrichen. Mikroorganismen am 2. Mai aufgetragen.

Mikroorganismen des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Typhusbazillus . . .	4 T	7 T	$^1/_2$ St	1 T	$^1/_2$ St	18 St	$^1/_2$ St	18 St
Bacillus pyocyaneus .	5 »	5 »	18 »	$^1/_2$ St	18 »	3 T	18 »	18 »
Micrococcus pyogenes aureus	7 »	7 »	3 T	3 T	3 T	5 »	3 T	3 T

Mikroorganismen des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Unbestrichenes Brett	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Typhusbazillus . . .	4 T	5 T	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	∞	∞
Bacillus pyocyaneus .	3 »	7 »	18 »	3 T	$^1/_2$ »	$^1/_2$ »	∞	∞
Micrococcus pyogenes aureus	9 »	9 »	3 T	3 »	3 T	3 T	∞	∞

II. Versuch.

Psicroganoma-Lack, am 14. April 1902 auf Glasplatten gestrichen. Mikroorganismen am 1. Mai aufgetragen.

Mikroorganismen des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Bacillus pyocyaneus .	$^1/_2$ St	1 T	1 T	1 T	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St
Micrococcus pyogenes aureus	7 T	11 »	3 »	5 »	2 T	2 T	$^1/_2$ »	3 T

Mikroorganismen des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Unbestrichene Platte	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Bacillus pyocyaneus .	1 T	1 T	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	$^1/_2$ St	∞	∞
Micrococcus pyogenes aureus	9 »	9 »	1 T	1 T	1 T	3 T	∞	∞

III. Versuch.

Ripolin-Lack, am 14. Mai auf Brettchen gestrichen. Mikroorganismen am 2. Juni aufgetragen.

Mikroorganismen des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Bacillus pyocyaneus .	7 St	1 T	7 St	7 St	7 St	7 St	$^1/_2$ St	7 St
Micrococcus pyogenes aureus	7 »	10 »	5 T	4 T	6 T	6 T	3 T	4 T

Mikroorganismen des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Unbestrichenes Brett	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Bacillus pyocyaneus .	$^1/_2$ St	1 T	$^1/_2$ St	7 St	$^1/_2$ St	7 St	∞	∞
Micrococcus pyogenes aureus	8 T	7 »	6 T	5 T	3 T	3 T	∞	∞

IV. Versuch.

Ripolin Lack, am 14. Mai auf Glasplatten gestrich. Keime am 2. Juni aufgetr.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	12 T	22 T	8 T	15 T	5 T	14 T	14 T	6 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Unbestrichene Platte	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	20 T	16 T	6 T	8 T	13 T	10 T	∞	∞

V. Versuch.

Cromolino-Lack, am 31. Mai 1902 auf Brettchen gestrichen. Micrococcus pyogenes aureus am 17. Juli 1902 aufgetragen.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	2 T	2 T	24 St	1/2 St	1/2 St	1/2 St	1/2 St	1/2 St

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Unbestrichenes Brett	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	—	—	—	—	1/2 St	1/2 St	∞	∞

VI. Versuch.

Cromolino-Lack, am 31. Mai 1902 auf Glasplatten gestrichen. Keim am 17. Juli 1902 aufgetragen.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	2 T	3 T	1 St	1/2 St	1/2 St	1/2 St	1/2 St	1/2 St

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Unbestrichene Platte	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	—	—	—	—	1/2 St	1/2 St	∞	∞

VII. Versuch.

Fetter Kopal-Lack, am 28. Mai 1902 auf Brettchen gestrichen. Mikroorganismus am 24. Juli 1902 ausgebreitet.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	20 T	21 T	13 T	20 T	20 T	22 T	17 T	20 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Lack ohne Farbstoff	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	17 T	20 T	18 T	20 T	19 T	22 T	19 T	20 T

VIII. Versuch.

Fetter Kopal-Lack, am 28. Mai 1902 auf Glasplatten gestrichen. Mikroorganismus am 24. Juni aufgetragen.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	16 T	21 T	15 T	19 T	16 T	19 T	15 T	19 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Lack ohne Farbstoff	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	19 T	19 T	15 T	21 T	15 T	19 T	18 T	21 T

IX. Versuch.

Die Farben des fetten Kopal-Lacks mit Wasser angemacht und auf Brettchen gestrichen. Mikroorganismus am 24. Juni ausgebreitet.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	16 T	21 T	15 T	19 T	16 T	19 T	15 T	19 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Ohne Farbe	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	15 T	19 T	15 T	31 T	15 T	19 T	18 T	21 T

X. Versuch.

Die Farben des fetten Kopal-Lacks mit Wasser angemacht und am 28. Mai 1902 auf Glasplatten gestrichen. Mikroorganismus am 24. Juni 1902.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	15 T	19 T	16 T	18 T	15 T	18 T	16 T	18 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun		Gelb		Blau		Ohne Farbe	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Micrococcus pyogenes aureus	16 T	20 T	14 T	20 T	11 T	18 T	∞	∞

XI. Versuch.

Infizierte Deckgläser, am Abend des 1. Juli 1903 einer mit Psicroganoma-Lack bestrichenen Fläche ausgesetzt.

Lage der infizierten Seite	Schwarz		Weifs		Rot		Grün	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Gegen den Lack . .	26 T	26 T	23 T	26 T	23 T	22 T	23 T	23 T
Hinterseite	23 »	23 »	22 »	23 »	23 »	23 »	23 »	22 »

Lage der infizierten Seite	Braun		Gelb		Blau		Ohne Farbe	
	L	D	L	D	L	D	L	D
Gegen den Lack . .	23 T	22 T	21 T	22 T	22 T	22 T	23 T	26 T
Hinterseite	23 »	23 »	23 »	23 »	23 »	23 »	22 »	22 »

XII. Versuch.

Psicroganoma-Lack am 1. April 1902 auf Brettchen gestrichen. Versuchskeim 11 Monate nach dem 1. März 1903 aufgetragen.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz	Weifs	Rot	Grün
Micrococcus pyogenes aureus	19 T	13 T	13 T	9 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun	Gelb	Blau	Unbestrichenes Brett
Micrococcus pyogenes aureus	17 T	8 T	14 T	∞

XIII. Versuch.

Ripolin-Lack am 14. Mai 1903 auf Brettchen gestrichen. Versuchskeim 10 Monate nach dem 21. März 1903 aufgetragen.

Mikroorganismus des Versuchs	Schwarz	Weifs	Rot	Grün
Micrococcus pyogenes aureus	18 T	10 T	11 T	8 T

Mikroorganismus des Versuchs	Braun	Gelb	Blau	Unbestrichenes Brett
Micrococcus pyogenes aureus	21 T	15 T	13 T	∞

Aus den vorstehenden Tabellen ergibt sich vor allem, daſs, während die mit dem von mir bereiteten Fettlack bestrichenen Flächen eine mikrobenvernichtende Kraft sehr geringen Umfangs ausübten, ob sie nun mit Farbstoff angesetzt waren oder nicht, die Lacke Psicroganoma, Ripolin und Cromolino eine solche in einem mehr oder minder bemerkenswerten Grade besitzen, entsprechend den von anderen und mit anderen Lacken gemachten Beobachtungen.

Die Dauer der mikrobenvernichtenden Kraft von einigen Lacken wurde von mir auch noch nach 10 bis 11 Monaten nachgewiesen und man kann annehmen, daſs sie auch darüber hinaus reichen kann.

Das Absterben der Keime auf den obenerwähnten Lackanstrichen findet nicht bei jedem Lackanstrich in gleichem Zeitraum statt, dieser wechselt vielmehr nach der Farbe der Lacke selbst. In der Tat hat die Widerstandskraft auf den Farben Braun und Schwarz sich als stärker erwiesen; bei den übrigen aber als schwächer. Bezeichnet man die Widerstandskraft von Blau mit der Wertziffer 1, so läſst sich — es handelt sich um Lacke von neuerem Anstrich — folgende Progressionsreihe feststellen: 1. Blau, 2. Gelb, 3. Grün, 4. Rot, 5. Weiſs, 6. Braun, 7. Schwarz.

Bei den Lacken dagegen, die schon seit langem aufgetragen sind, ist die Verschiedenheit in der Wirkung der Farben Gelb, Blau, Grün und Weiſs nicht bedeutend, wenngleich sich eine etwas stärkere Wirkung beim Grün nachweisen läſst, während auch hier Schwarz und Braun in weitem Abstand in die zweite Reihe rücken.

Diese Verschiedenheit ist nicht der Wirkung der verschiedenen Strahlen des Spektrums zuzuschreiben, die von den Farben der Lacke zurückgeworfen werden, wie man etwa aus dem Umstande annehmen möchte, daſs auf den Farben Weiſs, Braun und Schwarz, von denen die eine alle Lichtstrahlen zurückwirft, während die anderen sie gröſstenteils absorbieren, die Keime eine verschiedene Widerstandskraft gezeigt haben, in der ersteren nämlich eine geringere als in beiden letzteren. Tatsächlich wurde einerseits keine Verschiedenheit in der Wirkung der verschiedenen auf den Flächen aufgetragenen Farben im Licht und in der

Dunkelheit beobachtet, anderseits haben die auf den transparentesten Glasplatten ausgesetzten Keime, ob sie nun mit der lackierten Oberfläche in Berührung standen, oder ob das Glas dazwischen war, auf den verschiedenen Farben und auf der nicht kolorierten Platte fast die gleiche Periode ausgehalten. Da ferner eine ähnliche oder gleiche mikrobenvernichtende Wirkung weder auf dem von mir bereiteten und wie die obengenannten verschiedenen Lacke gefärbten Fettlacke, noch auf den Oberflächen, bei denen einfach die Farben aufgetragen waren, nicht statthatte, so mufs eine direkte, dem die Lacke färbenden Stoff inliegende Wirkung als Ursache ausgeschlossen werden.

Da sich aufserdem mit dem von mir berichteten Fettlack ganz hochglatte Oberflächen wie bei Anwendung der anderen Lacke ergaben, die eine bedeutende mikrobenvernichtende Kraft entfalteten, so gilt als ausgeschlossen, dafs diese Wirkung auf die Glätte zurückgeführt werden dürfe, wie von einigen angenommen wurde, und ist daran festzuhalten, dafs tatsächlich das Wirken einer chemischen Anlage im Spiele sein müsse.

Da ich die Zusammensetzung der Anmacheflüssigkeit der von mir studierten Lacke des Fabrikationsgeheimnisses wegen, wie schon gesagt, nicht kenne, so ist es schwer zu bestimmen, worin das Wirken der chemischen Anlage besteht. Da indes in meinem Fettlack das Leinöl in der von den Spezialhandbüchern vorgeschriebenen Menge nicht fehlte, so möchte ich mich der früher erwähnten Erklärung von Jacobitz nicht anschliefsen, als ob nämlich die mikrobenvernichtende Wirkung der lackierten Oberfläche in erster Linie auf die flüchtigen Substanzen zurückzuführen sei, die sich im Leinöl während der Trocknung bilden, auch aus dem Grunde, weil die bekannte Wirkung, auch wenn die Trocknung seit längerer Zeit abgeschlossen ist, noch stattfindet, gerade bei meinen Experimenten geschah dies noch nach 10 bis 11 Monaten.

Ist die Abstufung der mikrobenvernichtenden Wirkung eines Lacks auf Grund seiner Farbennuance gegeben und auch aufser Frage gestellt, dafs diese weder der Wirkung der zurückgeworfenen oder absorbierten Lichtstrahlen zugeschrieben werden dürfe noch

der direkten Wirkung des Farbstoffs selbst, so mufs angenommen werden, dafs die Farben einen indirekten Einflufs ausüben, indem sie in verschiedenem Grade die Entwicklung jenes noch unbekannten chemischen Zustandes, dem die Desinfektion zuzuschreiben ist, erleichtern oder erschweren. Und dies scheint wahrscheinlich, wenn man bedenkt, dafs, während die mikrobenvernichtende Wirkung eine geringere ist in einem Lack, der mit vorwiegend organischen Stoffen, wie Kienrufs und Terra di Siena es sind, angemacht ist, welch letztere nichts weiter als eine stark eisenhaltige Tonerde darstellt, — diese stärker ist in Lacken, die mit Farben angemacht sind, die meistens giftige Salze oder Metalloxyde von Kobalt, Zink, Chrom und Blei sind.

Die Umsetzungswärme bei der Alkoholgärung.

Von

Max Rubner.

I.

In einer früheren Untersuchung über den Energieverbrauch im Leben der Mikroorganismen[1]) habe ich Mitteilung darüber gemacht, dafs man mit der von mir ausgedachten Methode der Wärmemessung sehr wohl imstande ist, die eigentümlichen Zersetzungen bei den niederen Lebewesen zu verfolgen. Nach den allgemeinen Darlegungen, welche ich gegeben habe, will ich nunmehr dazu übergehen, die speziellen Ergebnisse hier mitzuteilen und zwar beginne ich mit der Darstellung der Wärmeverhältnisse bei der Alkoholgärung. Die Alkoholgärung ist vielleicht diejenige, über welche wir die beste und ausgedehnteste Kenntnis besitzen. Sind doch sowohl die morphologischen, biologischen wie chemischen Verhältnisse aufserordentlich eingehend von den verschiedensten Untersuchern studiert. Die Alkoholgärung hat die Frage der Mitwirkung der lebenden Zellen bei dem Gärungsprozesse überhaupt ins Rollen gebracht, an ihr hat man zuerst den Gegensatz des aeroben zu dem anaeroben Leben kennen gelernt, die Einflüsse variabler Lebensbedingungen studiert, die Stoffwechselgleichung für die Zuckerzerlegung am schärfsten sichergestellt.

---

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XLVIII, S. 260.

Lange hat der Streit über geformtes und ungeformtes Ferment hin- und hergeschwankt. Er schien für die Zerlegungsfähigkeit des Zuckers durch das lebende Eiweifs sich zu entscheiden.

In neuerer Zeit ist durch die Untersuchung von E. Buchner[1]) die Trennbarkeit des Enzyms von der lebenden Zelle studiert worden und haben diese Beobachtungen grofses und berechtigtes Aufsehen erregt.

So scheint aufs neue die Fermenttheorie ihren Einzug zu halten, und manche sind der Anschauung, dafs damit ein Endziel in der Aufklärung über die Lebensvorgänge der Hefezelle erreicht sei.

Die Alkoholgärung ist bis jetzt immer im gewissen Sinne vorbildlich für das Studium der Gärungsvorgänge gewesen, und man hat die hierbei gemachten Erfahrungen auf ähnliche Vorgänge bei anderen Gärungen zu übertragen versucht.

Es könnte fast überflüssig scheinen, sie zum Gegenstand einer erneuten Untersuchung zu machen. Aber ich bin der Anschauung, dafs das Leben der Hefezelle durchaus noch nicht zu einem klaren Verständnis geführt worden ist. Trotz der zahllosen experimentellen Untersuchungen bleibt über dem eigentlichen Wesen des Lebensprozesses noch ein dichter Schleier, und fast könnte man sagen, dafs durch die Entdeckung der von der Zelle abtrennbaren Enzyme, so wertvoll diese Entdeckung in der Tat auch ist, der Lebensvorgang selbst eine klare Beleuchtung nicht erfahren hat.

Das Enzym läfst sich isoliert gewinnen, zeigt seine mächtige Wirkung, läfst sich zu jeder Zeit von der Hefe scheiden, es kommt in grofsen Mengen vor, anscheinend reich genug, um die umfassendsten Veränderungen der Hefeflüssigkeiten herbeizuführen. Erschöpft sich das Leben in solcher massenhaften Enzymbildung?

Worin besteht das Leben, welche Rolle haben die Enzyme in ihm? Der Rätsel werden oft mehr, je weiter wir vorwärts

1) Zymasegärung, von E. Buchner, 1903.

schreiten. Aber abgesehen hiervon, glaube ich annehmen zu dürfen, daſs selbst die quantitativen chemischen Umsetzungen nicht völlig sicher stehen, und daſs die Anwendung neuer chemischer Methoden zur Feststellung der Spaltungsprodukte Änderungen in unseren Anschauungen erzeugen dürften.

II.

Die Tatsache der Wärmebildung durch die gärende Hefe ist schon lange bekannt. Man findet in den Gärräumen, falls dieselben von bescheidener Ausdehnung sind, sogar eine geringere Erhöhung der Temperatur. Man kann daher mit dieser Wärmebildung als mit etwas Sicherem rechnen. Es sind sogar Versuche über die bei der Gärung freiwerdende Wärme und Versuche der genauen Bestimmung ihrer Quantität in einzelnen Fällen ausgeführt worden.

Der Ausgangspunkt für derartige Betrachtungen möge sich wohl aus der Diskussion Liebigs über die Hefewirkung ergeben haben.[1]) Liebig war der Anschauung, daſs zur Zerlegung einer chemischen Verbindung, wie sie die Vergärung des Zuckers darstellt, eine groſse Kraftmenge notwendig sei, und daſs die Albuminate die Quelle dieser Kraft seien. Im Gegensatz dazu stand später Hoppe-Seylers Ansicht, daſs bei der Fermentwirkung Körper von zusammengenommen geringerer Kalorienmenge, als sie dem Ausgangsmaterial zukommt, entstünden. Man suchte, die Natur des belebten und unbelebten Ferments in einer thermischen Formel unterzubringen!

Liebig wollte an der Hand einiger thermochemischer Daten die Richtigkeit seiner Anschauungen beweisen und meinte, der aus dem Zucker entstehende Alkohol gäbe für sich schon mehr Wärmeeinheiten als der Zucker aus dem er entstanden sei, abgesehen von der Gärungswärme!

Man hat zwar gegen die Liebigsche Rechnung mancherlei Einwände zu machen gewuſst, entscheidend wurde er damals aber nicht widerlegt[2]); wie wir ja jetzt wissen, fehlte es an den nötigen

1) Sitzungsberichte d. k. bayer. Akademie d. Wissensch., 1869, II, S. 427.
2) Siehe b. Nägeli, Die Gärung, S. 56, 1879.

thermochemischen Grundlagen, die wir heute besitzen. Niemand wird noch die Liebigschen Zahlen für zutreffend ansehen.

Aber das Interesse an der Frage der Gärungswärme war wegen der theoretischen Bedeutung derselben ein sehr grofses.

Versuche, direkt die Gärungswärme zu messen, sind bisher nur in sehr bescheidener Zahl ausgeführt worden, trotz der langen Zeit, die seit den ersten hierher gehörigen Untersuchungen verflossen ist.

Da sind zuerst die Experimente von Dubrunfaut[1]) zu erwähnen, der die Verhältnisse der Wärmebildung an einer gärenden Masse von 21,4 cbm verfolgte, die in einem Bottich von Eichenholz sich befand. Sehr ergebnisreich sind diese Experimente nicht gewesen, und Nägeli[2]), der dieselben eingehend kritisch beleuchtet hat, konnte zu keinem sicheren Endresultate gelangen. Aber die Ergebnisse schienen doch insofern für ihn von Wichtigkeit, als er glaubte, thermochemische Verschiedenheiten zwischen Fermentwirkungen und Hefewirkungen entdeckt zu haben. Bei ersteren, meinte er, werde Wärme gebunden, bei den anderen entbunden.

Es sind später noch von Bouffard[3]) und dann von Adr. Brown direkte Experimente zur Feststellung der Gärungswärme — welcher nunmehr erhöhtes Interesse zugesprochen werden mufste — gemacht worden, die in mancher Beziehung die Versuche von Dubrunfaut unterstützen.[4])

Das sind alle mir bekannt gewordenen Messungen über die Wärmeentwicklung bei der Gärung.

Manche mögen wohl solche Experimente für entbehrlich halten, weil man ja auch auf anderem Wege dieser Frage nähertreten kann, d. h. durch Aufstellung der Gärungsgleichung und der ihr entsprechenden thermochemischen Werte.

Seitdem durch thermochemische Untersuchungen über die Verbrennungswärme des Zuckers, des Alkohols, ferner betreffs

1) Compt. rend., 1856, S. 945.
2) a. a. O., S. 66.
3) Compt. rend., 1895, S. 357, F. 121.
4) Zeitschr. f. Brauwesen, XXIV, S. 273.

der Absorptionswärme der Kohlensäure nähere Grundlagen zur theoretischen Ableitung der Gärungswärme gelegt worden sind, gedachte man, aus den thermochemischen Daten für diese Fragen weiteres Material zu gewinnen.

Nichts scheint also einfacher, als auf rechnerischem Wege die Aufgabe zu lösen. Wenn wir uns den Versuch, oder richtiger gesagt, die Versuche, der Aufgabe gerecht zu werden, betrachten, so erkennt man freilich, wie grofs die Hindernisse sind, welche sich entgegenstellen.

So berechnete Berthelot[1]) für 1 Mol. Traubenzucker
713 Kal. als Verbrennungswärme
und für 2 Mol. Alkohol 642 »
= + 71 Kal. pro 1 Mol. Traubenzucker
als Gärungswärme.

Rechenberg berechnete die Bildungswärme des Traubenzuckers = 978
— 709
= 269 Kal. pro Molekül.

Die Bildungswärme des Alkohols (2 × 74)
und 2 CO_2 = 148
+ 188
= 336 Kal.,
woraus sich als Gärungswärme
269
+ 336
= + 67 Kal. ableiten liefs.

In analoger Weise gibt Berthelot[2]) für den Traubenzucker, nach den Bildungswärmen berechnet, die Gärungswärme zu
333,4
— 300,0
= + 33,4 Kal. pro Molekül.

1) Annal. de Chim. et Physique, 4. Ser., Bd. VI, p. 399.

2) Chaleur animale, T. I, p. 67.

Zur nämlichen Zahl gelangt derselbe Autor.

Traubenzucker gelöst = 679,4 pro Molekül
— 2 Alkohol gelöst 646,4
= 33,0.

Wenn aber die dabei entstehenden beiden Moleküle Co_2 gelöst in der Flüssigkeit bleiben, so hat man ($2 \times 44 \times 0,127$)
11,2 Kal. mehr
= 44,2 pro Molekül Traubenzucker.

In analoger Weise erhielte man für den Rohrzucker
1 Molekül = 1352,7
ab für Alkohol 1292,8
= + 59,9 Kal.

Dabei ist die CO_2 als Gas aufser Rechnung gelassen, bleibt sie absorbiert, so entsteht mehr an Wärme
+ 22,4 Kal.,
also Rohrzucker gelöst — (Alkohol gelöst + CO_2 gelöst)
= 82,3 Kal. pro Molekül.

Bei der Spaltung von Rohrzucker in Glukose und Fruktose werden pro Molekül 3,1 Kal. frei.[1])

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6 + 3,1$$
1352,7 673,7 675,7

Wenn dieser Akt der Hydratierung etwa mit der Gärung Hand in Hand geht, so wäre diese Menge von 3,1 Kal.[2]) noch zuzuzählen, also 63[3]) bzw. 85,3 die entsprechenden Werte; erfolgt die Hydratierung in schnellerem Zug als die Alkoholspaltung, so würde rasch diese Wärme vorerst zur Entwicklung kommen können.

Der Vollständigkeit halber mag angeführt sein, dafs Berthelot zuerst 50 Kal., später 70 Kal. als Gärungswärme annahm[4]), mit der Verbesserung der Methodik dann + 29 (für Dextrose), Stohmann[5]) + 12,7 annimmt, Ostwald 57,5[6]) für gelöste Produkte.

---

1) Stohmann, Journ. f. prakt. Chemie, 13, S. 343.

2) Pro 1 g $\frac{3100}{342}$ = 9,0 g Kal.

3) Pro 1 g Gärungswärme inkl. Hydratierung CO_2 frei = 184,2
CO_2 gelöst = 249,4.

4) Compt. rend., 59, p. 901.

5) Journ. f. prakt. Chemie, 1887, N. F. 36, S. 135.

6) Lehrbuch d. allgem. Chemie.

Es ist begreiflich, wie sehr die Annahmen hin und her schwanken müssen, da alle Fehler der kalorimetrischen Methodik naturgemäfs bei solchen Berechnungen ganz besonders schwer in Rechnung fallen.

Wie man sieht, lassen also die thermochemischen Daten manche Unsicherheit erkennen. Die Gärgleichung verläuft, wie man weifs, nicht glatt in einer Kohlensäure- und Alkoholspaltung, sondern es tritt etwas Zucker an die Hefe, und es wird Glyzerin und Bernsteinsäure gebildet. Mit Rücksicht auf die beiden letzten gibt Berthelot folgende modifizierte Rechnung:

171,7	Dextrose zu Alkohol + CO_2	31,47
81,3	Glyzerin- und Bernsteinsäure	0,60
		= 32,07,

also rund 3 Kal. weniger.

Zweifellos wird auch hier noch ein kleiner Abstrich für den Anwuchs zu Hefe zu machen sein. Kurz und gut, es ist noch keineswegs auch auf diesem Wege sicher, mit welchen Gröfsen man zu rechnen haben wird. Diese Fragen werden sich aber einer direkten und damit auch schärferen Untersuchung unterziehen lassen. Die thermochemischen Gleichungen haben je nach der wechselnden Grundlage bald diese, bald jene Gärungswärme berechnen lassen, und wenn man nicht der Anschauung huldigt, dafs die »neuesten festgestellten Werte« ohne weitere Kritik alle früheren Befunde überflüssig machen, wird man das Bedürfnis nach einer Prüfung auf anderem und zwar direktem Wege anerkennen müssen.

Wer sagt auch, dafs die Alkoholgärungsgleichung, wie sie Pasteur u. a. aufgestellt haben, wirklich den ganzen biologischen Vorgang des Lebens der Hefezelle in der Zuckerlösung umfafst?

III.

Ehe ich aber darauf eingehe, möchte ich einige allgemeine Bemerkungen über die Vorzüge der Verwertbarkeit meiner thermischen Methodik vorausschicken.

Die thermische Methode kann dazu dienen, die energetischen Verhältnisse der Hefezelle genauer festzustellen, was sich auf

anderem Wege nicht erreichen läfst. Diese energetischen Fragen sind sämtlich mit Bezug auf die Lebensvorgänge und Lebensbedingungen der Hefezelle aufserordentlich wechselnd.

Die alkoholische Gärung eignet sich vorzüglich zu diesem thermischen Studium. Die methodischen Schwierigkeiten sind nicht sehr grofse, speziell das Ausgangsmaterial ist leicht und in genügender Menge zu erhalten, die Wärmewirkung selbst eine mit Bezug auf andere Mikroorganismen betrachtete, sehr erhebliche.

Bei der Ausführung meiner Methode zeigt sich sehr bald ihre Überlegenheit gegenüber der bisher benutzten Art der chemischen Methode. Ich kann mit Bestimmtheit sagen, dafs man den zeitlichen Verlauf des Gärungsvorgangs heutzutage noch sehr unvollkommen kennt. Was die thermische Methode allem überlegen macht, ist die Raschheit der Ausführbarkeit des Experimentes, die Übersichtlichkeit der Ergebnisse und die sichere Messung.

Es zeigt sich uns in den allereinfachsten Experimenten sofort eine Erscheinung, die man bis jetzt nicht kannte. Nämlich das urplötzliche Eintreten der Gärung. Fügt man einer Nährlösung Hefezellen zu, so dauert es manchmal nur Sekunden, bis man an dem steigenden Thermometer den grofsen Umfang der chemischen Umsetzung erkennen kann. Die allermächtigste Wirkung sehen wir stets in der allerersten Zeit und hier liegt in allen Fällen das Maximum der Wirkung. Ein Versuch mittels Kohlensäuerungsbestimmungen, ein Bild dieser Gärung zu geben, ist kaum möglich, dazu ist die chemische Methodik zu langsam und es tritt namentlich durch die Absorption der Kohlensäure eine Störung in dem Sinne ein, dafs die Ergebnisse des Experimentes gewissermafsen zeitig herausgeschoben werden. Somit erlangen wir auf thermischem Wege einen zeitlich richtigeren Einblick in die Gärungsvorgänge.

Es wird aber wichtig sein, ehe wir an die experimentellen Ergebnisse herantreten, nunmehr auf das Technische dieser Sache einzugehen.

Zunächst kann es für selbstverständlich gelten, dafs man bei derartigen Experimenten von Reinkulturen der Hefe ausgeht,

und ich habe derartige Experimente auch in ausreichendem Maſse angestellt. Ich habe aber in vielen Fällen gesehen, daſs man für sehr zahlreiche Fragen mit der üblichen käuflichen Hefe (Doppelhefe) zu experimentieren in der Lage ist, da die Hefegärung das Eigentümliche besitzt, die anderen verunreinigenden Organismen zu unterdrücken. Die Hefe enthält freilich viele Zellen, welche nicht mehr auf Würzeagar wachsen, also im üblichen Sinne unserer heutigen Auffassung als nicht mehr lebend aufgefaſst werden.

Im Durchschnitt enthielt 1 g Hefe frisch, in Millionen 17254 Individuen nach dem Ergebnis in der Zählkammer und 5705, welche auf Würzeagar wuchsen, daneben Bakterien, die aber nur in beschränktem Maſse auswuchsen.

Bei frischem Wachstum wird diese Ungleichheit mehr und mehr abgeglichen, so daſs in Reinkulturhefe, zeitig geerntet, unter 14400 Millionen pro 1 g 10370 auf den Platten wachsende waren.

Der günstigste Fall lieferte unter 17200 Millionen Zellen 16855 Millionen kultivierbare.

Nach der Gärung war aber die Zahl der kultivierbaren auf 50% und mehr herabgegangen.

Man kann also auf ganz konstante Verhältnisse nur schwer rechnen und zur Zeit der Experimente weiſs man natürlich von dem genauen Zustande des Materials überhaupt noch nichts.

Indes sind mir erhebliche Bedenken gekommen, ob es überhaupt angängig ist, alle nicht auf unseren gewöhnlichen Nährböden **wachsenden** Hefezellen einfach als »totes« Material zu betrachten. Ich werde in einer späteren Abhandlung näher dartun, daſs der Mangel an Wachstumsfähigkeit kein allgemeines Kriterium des Todes ist, wie wir bis jetzt auf diesem Gebiete angenommen haben.

Lebensfähigkeit und Wachstumsfähigkeit sind zwei Dinge, die man auseinanderhalten muſs. Die erste kann bestehen und die Zelle kann wirken und Umsetzungen erzeugen, obschon sie sich in dem Zustande befindet, sich nicht mehr vermehren zu können.

Die gelegentlichen Verunreinigungen der Hefe haben nicht gehindert, daſs man in ihr ein ganz gutes Experimentiermaterial

schon in früherer Zeit besessen und richtig verwertet hat. Jedenfalls steht so viel sicher, dafs gerade zur Zeit der kräftigsten Gärung irgendeine Gefahr der Verunreinigung mit anderen Keimen nicht besteht. Freilich gegen das Ende der Gärung, wenn der Zucker aufgezehrt ist oder fast aus den Lösungen verschwunden ist, treten Fälle ein, in welchen störende Nebengärungen durch fremde Organismen nicht immer fehlen. Dies ist besonders dann der Fall, wenn es sich von vornherein um sehr verdünnte Zuckerlösungen handelt. Das Einschleichen solcher fremder Gärungen ist übrigens gerade durch die thermische Methode sehr leicht aufzudecken. Man mufs sich vergegenwärtigen, dafs die Gärung in dem Sinne verläuft, dafs wir zunächst ein Ansteigen der Temperatur bis zu einem Maximum haben und dann die Temperatur mehr oder minder schnell sinkt, bis sie den Nullpunkt wieder erreicht. Tritt aber eine störende Gärung ein, so wird uns auf dieselbe sowohl das ganze Aussehen der Gärflüssigkeit als namentlich der Umstand aufmerksam machen, dafs die Tendenz des Temperaturabfalls zum Stillstand kommt und nunmehr sogar eine Steigerung der Wärme aufs neue einsetzt. Diese Umkehr der Kurve ist eine so frappante, dafs sie auch bei der oberflächlichsten Beobachtung aufs neue eingehen kann.

Nachstehende Abbildungen geben wohl ohne weitere Erläuterung ein verständliches Bild von den Resultaten eines solchen Versuchs.

Fig. I enthält die notierten Temperaturen während des Experiments bis zu Ende des Versuchs. Die Beobachtungen sind aufgetragen und die Zahlen verbunden worden. Sie zeigen eine — ohne alle Korrektur — regelmäfsig verlaufende Kurve steil ansteigend, dann sachte auf Null abfallend.

Fig. II. gibt einen unregelmäfsig verlaufenden, durch komplizierte Gärung gestörten Fehlversuch. Die Gärflüssigkeit zeigt in der 28. Stunde ein schwaches Häutchen von gröfstenteils Hefezellen. Vermutlich handelt es sich um aërobe Zuckerzerlegung. Essigsäure war nach dem Versuch n i c h t nachzuweisen.

Die Verwendung der gewöhnlichen Hefe ist somit in vielen Fällen durchaus erlaubt und war nach manchen Richtungen hin deshalb geboten, weil es sich namentlich auch um die Vergleichsmöglichkeit mit den älteren Versuchen handelte, die ja fast sämtlich mit solcher Hefe ausgeführt worden sind. Ich werde bei den einzelnen Versuchen noch näher auf die hierher gehörigen Fragen eingehen.

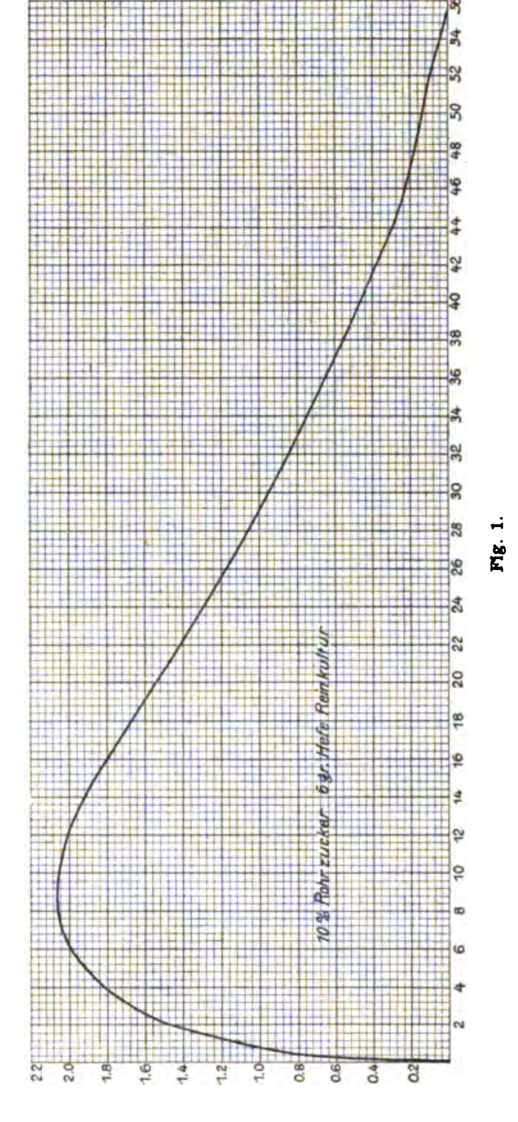


Fig. 1.

Als **Nährmaterial** habe ich je nach den verschiedenen Aufgaben, die zu lösen sind, sowohl Rohrzucker wie auch andere Zuckerarten oder dort, wo es auf ein üppiges Wachstum ankam, Bierwürze verwendet.

Bei der Ausführung des Versuchs sind selbstverständlich, wenn es sich um Reinkulturen handelt, aber auch sonst die Kalorimeter und die anderen Teile zu desinfizieren. Die Kalorimeter lassen sich am einfachsten mit konzentrierter Schwefelsäure unter Nachwaschen, mit sterilem Wasser reinigen, Korke werden in kochendem Wasser ausgekocht, die Thermometer mit konzentrierter Schwefelsäure oder mit Wasserstoffsuperoxyd desinfiziert.

Was die Ausführung der Versuche anbelangt, so habe ich zunächst der **Aufstellung** der Kalorimeter in dem Brutraum zu gedenken. Die Kalorimeter sind in demselben so befestigt, daſs sie möglichst wenig Kontakt mit festen Teilen besitzen. Ihre Berührung beschränkt sich auf die Berührung der Spitze mit einem schlechten Wärmeleiter, während der Hals des Kalorimeters von einem Metallstreifen gefaſst wird. Die Kalorimeter sind gegeneinander durch Platten von Wärme schlechtleitenden Stoffen geschützt, so daſs also die Ausstrahlung eines sich erwärmenden Kalorimeters das andere völlig unberührt läſst.

Die Kalorimeter sind nun in der anderen Ortes angegebenen Weise mit dem elektrischen Strome zu eichen. Bei Ausführung

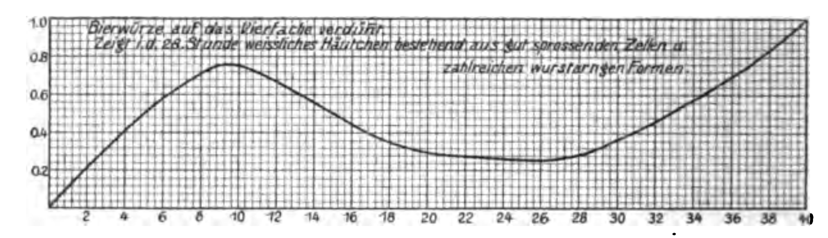


Fig. 2.

der Eichung kann ich empfehlen, mehrere Kalorimeter gleichzeitig der **Eichung** zu unterziehen; es unterliegt das ja keinen Schwierigkeiten, da man jedes der Kalorimeter mit einem besonderen elektrischen Widerstand, der genau bekannt ist, versehen kann, so daſs man also die Eichung sämtlicher in Gebrauch zu nehmender Instrumente unter genau denselben Bedingungen zu unternehmen in der Lage ist; dies bietet auch den Vorteil einer scharfen relativen Vergleichung der Instrumente untereinander.

Eichungsbeispiel.

Angewandter Widerstand . . . = 0,25 Ω.
Ampèremittel . . . . 0,76 A.
Wärmeüberschuſs der Kalorimeter = 2,22°.

Die Wärmemenge W berechnet sich nach der Formel pro Stunde:

$$W = \frac{A^2\,\Omega}{9{,}81 \times 424} \times 3600, \text{ also}$$

$$W = \frac{0{,}76^2 \cdot 0{,}25}{9{,}81 \times 424} \times 3600 = 0{,}1249 \text{ g Kal.}$$

$$\frac{1249 \text{ g Kal.}}{2{,}22} = 55{,}8 \text{ g Kal.}$$

pro 1° Temperaturunterschied.

Ich habe noch aufserdem die Kalorimeter geeicht, indem ich sie, gefüllt mit warmem Wasser, abkühlen liefs, diese Zahlen geben im Vergleich zur elektrischen Eichung gleichfalls gute Resultate.

Die Feststellung des Eichungswertes würde uns für die weiteren Untersuchungen genügen können, falls es nur darauf ankäme, einen Wärmegleichgewichtszustand zu erreichen und diesen längere Zeit zu beobachten. Dieser Fall ist aber bei dem Studium der Hefezellen ein äufserst seltener, zumeist haben wir es mit fortwährenden Veränderungen der Temperatur der Kalorimeter (siehe Fig. I) zu tun, und es obliegt uns also die Aufgabe, den Wärmewert der betreffenden Schwankungen zahlenmäfsig festzustellen. Wenn das Kalorimeter an Wärme zunimmt, so ist eine Wärmeproduktion vorhanden, welche bestimmt werden kann, wenn man den Wasserwert des Kalorimeters und seiner Füllung kennt und aufserdem die während der genannten Zeitperiode vor sich gehenden Wärmeverluste nach den Eichungszahlen berechnet.

Wir müssen zunächst auf die Feststellung der Wasserwerte näher eingehen.

Der Wasserwert der Kalorimeter spielt an und für sich eine geringe Rolle, da die Glasmasse derselben eine sehr geringe ist. Von dieser Glasmasse wird aber wiederum nur ein Teil von den Veränderungen der Temperatur der Kalorimeterflüssigkeit in Mitleidenschaft gezogen. Um diese Gröfse kennen zu lernen, füllte ich zunächst das Kalorimeter mit Wasser von

Stubentemperatur und, nachdem ein Gleichgewichtszustand eingetreten war, wurde das Wasser des Kalorimeters schnell durch Wasser von hoher Temperatur ersetzt und genau nach dem Zeitmafs die Abkühlung dieses Wassers festgestellt und hieraus der Wasserwert der Glasteile des Kalorimeters bestimmt.

Die wesentlichste Bedeutung besitzen betreffs des Wasserwertes die flüssigen Teile, bzw. die eingefüllten Nährflüssigkeiten und unter diesen habe ich mich hier im speziellen Falle sämtlich mit den Zuckerlösungen und der Bierwürze zu beschäftigen.

Die spezifische Wärme dieser Flüssigkeiten ist nicht genau bekannt, und ich war daher genötigt, für meine Untersuchungen besondere Experimente und Messungen anzustellen. Zu diesem Behufe bediente ich mich eines Kalorimeters mit 1500 ccm Wasserfüllung. Die Flüssigkeit, welche auf ihre spezifische Wärme untersucht werden sollte, wurde in ein zylindrisches Gefäfs von etwa 80 ccm gebracht. Das Gefäfs war aus Messing hergestellt, trug einen Deckel, welcher konischen Schliff besafs; in dem Deckel befand sich eine Öffnung mit Kork, durch welchen ein Thermometer gesteckt werden konnte. Die zu untersuchenden Flüssigkeiten wurden in dieses Gefäfs gebracht, jedoch nur in solcher Menge, dafs noch genügend Luftraum vorhanden war, um durch Schütteln des Apparates eine gleichmäfsige Temperaturvergleichung zu erzielen.

Nachdem das Kalorimeter sich in gleichmäfsiger Temperatur befand, wurde der Apparat mit der zu untersuchenden Flüssigkeit, welche vorher in einem Wasserbad erhitzt worden war, nach vorhergegangener guter Mischung des Inhalts schnell in das Kalorimeter hinübergebracht und nun beobachtet, welche Veränderungen in der Temperatur sich ergaben. Das Thermometer des Messungsapparates dient selbst als Stab zur Mischung der Kalorimeterflüssigkeit. Bemerkt man, dafs die Temperatur der zu untersuchenden Flüssigkeit ganz nahe der Temperatur des Kalorimeters gekommen ist, so unterbricht man den Versuch, da der definitive Ausgleich der Temperatur zwischen Kalorimeter und der zu untersuchenden Flüssigkeit viel zu lange dauert.

Aus den erhobenen Tatsachen läfst sich dann die spezifische Wärme der betreffenden Lösung, mit anderen Worten, der sog. Wasserwert feststellen.

Die bei der Hefegärung in Betracht kommenden Flüssigkeiten haben das Eigentümliche, dafs sie keineswegs gleich zusammengesetzt bleiben, sondern dafs sie eben durch die Gärung einer beständigen Umwandlung unterworfen sind. Der Zucker geht in Alkohol über, der Alkohol sammelt sich in der Flüssigkeit an. Nägeli glaubte, dafs wegen dieser fortwährenden Veränderungen der Zusammensetzung der Flüssigkeit eine genaue Angabe des Wärmewerts überhaupt untunlich sei. Er meint bei der theoretischen Besprechung des Versuchs von Dubrunfaut, es wäre zu berücksichtigen, dafs die spezifische Wärme nur für gleichbleibende Konstitution gelte und eine Berechnung eines mittleren Wertes unstatthaft sei. »Wir wissen nicht, wieviel die spezifische Wärme einer Flüssigkeit beträgt, deren Zuckergehalt im Abnehmen, deren Alkoholgehalt im Zunehmen begriffen ist; wir kennen nicht die Differenz in der gebundenen Wärmemenge einer Zuckerlösung und einer Alkohollösung von gleicher Temperatur.«

Diese Bedenken von Nägeli sind aber keineswegs schwerwiegender Natur, er selbst hat auch nicht versucht, durch den Versuch etwa direkt zu messen, inwieweit Fehler nach seinen Bedenken praktisch hervorgerufen werden können. Will man sich zunächst dies theoretisch überlegen, so findet man, dafs ein Teil Rohrzucker rund 0,5 Teile Alkohol gibt; ein Teil Rohrzucker entspricht 0,629 Volumen und diese sind = 0,638 Volumen Alkohol. Die Raumverhältnisse durch die Umwandlung von Rohrzucker in Alkohol werden also kaum geändert, wenn man auch weiter berücksichtigen mufs, dafs durch die Kontraktion des Alkohols und etwa auch des Rohrzuckers kleine Verschiedenheiten entstehen mögen. Es ist aber durch Versuche von Brown & Stern[1]) nachgewiesen, dafs die Volumenabnahme bei der Gärung derart unbedeutend ist, dafs sie in den meisten Fällen vollständig vernachlässigt werden kann. Brown & Stern berechnen für eine Flüssigkeit von 250 ccm 265 g Anfangsgewicht, das Schlufs-

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, XXIV. Jahrg., S. 292.

gewicht würde sein 255 × 0,998 = 2544, der Gewichtsverlust würde somit 11,6 g betragen, während die Kohlensäureproduktion zu 11,4 g Kohlensäure berechnet werden mufs.

Um alle Zweifel zu beseitigen, habe ich direkte Experimente angestellt. Für die Rohrzuckerlösung ist die spezifische Wärme bereits bekannt, für 43,2 und 4,5 %; ich habe dieselbe für die 10proz. und 18proz. Lösung neu bestimmt, so dafs man wohl in der Lage ist, durch Interpolationen aus diesen vier die weiteren abzuleiten, ebenso wurde auch für die vergorene Flüssigkeit die spezifische Wärme nach Destillation des Alkohols bestimmt und aus dieser berechnet, wie sich die spezifische Wärme der Alkoholflüssigkeit verhält. Die Werte, die auf diesem Wege gefunden werden, stimmen so nahe mit der anfangs bestimmten spezifischen Wärme überein, dafs es unnötig ist, besondere Zahlen für die einzelnen Zeiten der Zerlegungen zugrunde zu legen. Für die Bierwürze gilt genau dasselbe. Zur Bestimmung der spezifischen Wärme der Hefezellen bin ich in gleicher Weise, wie oben besprochen, vorgegangen.

Der Wasserwert der Thermometer wurde für die eintauchenden Teile durch Zerschneiden eines Thermometers und Auswiegen des Glases und des Quecksilbers berechnet.

Es mögen hier einige Zahlenangaben angefügt werden; die Wasserwerte meiner Kalorimeter bewegten sich zwischen 10—15 g Kal.[1]), die der Thermometer rund 1,1 g Kal.

Die spezifischen Wärmen der Rohrzuckerlösungen sind:

43,2 g[2])	0,7558
18 » [3])	0,907
10 » [3])	0,950
4,5 » [3])	0,956.

Eine 10proz. Rohrzuckerlösung hat nur 250 ccm Flüssigkeit, nach meinen Bestimmungen also 250 × 0,950 × 1,0401[4]) Wasser-

1) Die Kalorimeter wiegen ca. 150 g Glasmasse und weniger, so dafs der Wasserwert der ganzen Glasmasse überhaupt zwischen 20—30 g Kal. ausmacht. Für den Versuch kommt aber nicht diese ganze Masse in Betracht.

2) Landolt und Bernstein, S. 135b.

3) Nach meinen Untersuchungen.

4) Spez. Gewicht der Lösung.

wert = 2465. Es entsteht daraus eine 5proz. (Gewicht) Alkohollösung. Rechnet man zum Schlufs durch Kontraktion[1]) rund 1 ccm (0,75 ccm) Abnahme, so ist der Wärmewert dieser Lösung (249 × 0,991[2]) × 1,01) = rund 249. Dabei wäre zu berücksichtigen, dafs bei der Gärung noch Glyzerin und Bernsteinsäure den Wasserwert herabdrücken, also die Werte 247 und 249 noch näher aneinanderrücken. Ich fand das spezifische Gewicht der Flüssigkeit, welche nach der Vergärung einer 10proz. Rohrzuckerlösung mit der Hefe hinterbleibt, bei 15° zu 0,998.

Wurde die Masse durch Eindampfen von flüchtigen Bestandteilen befreit und wieder auf das ursprüngliche Volumen gebracht so erhielt ich 1,0042 spez. Gewicht. (Ohne Hefe!)

Die spezifische Wärme dieser Flüssigkeit ist 0,991, also der Wasserwert nach Beseitigung des Alkohols = 1,0042 × 0,991 = 0,995. Der Wärmewert der alkoholführenden Flüssigkeit mufs also auch nach dieser Bestimmung kleiner sein, als wir für rein alkoholische Flüssigkeiten angenommen haben.[3])

Aus den Überlegungen ergibt sich, dafs für die Zuckerlösungen die Bestimmung der spezifischen Wärme genügt, um dieselbe bei der Wärmeberechnung zugrunde zu legen.

Zu gleichen Ergebnissen kommt man für die Bierwürze; für diese fand ich im Mittel 0,917 spez. Wärme. Für eine in meinen Versuchen vielfach benutzte rohrzuckerhaltige Würze (40 Rohrzucker zu 250 Volumen) 0,872 spez. Wärme.

Für diese letztere betrug der Wasserwert 242,7 pro Füllung des Kalorimeters; nach der Berechnung müfste man für die ver-

---

1) Muspratts techn. Chemie, I, S. 160.

2) Landolt und Bernstein, S. 79; man beachte, dafs die Temperatur der Flüssigkeit, welche ins Kalorimeter kam, immer mindestens 22°, meist 28° betrug.

3) Wenn der Alkohol bei 20° 0,789 spez. Gewicht hat, so beträgt bei 250 ccm 5proz. Lösung die Volummenge 12,5 × 0,789 = 9,86 ccm, also 250 ccm Lösung — 9,9 ccm Alkohol rund 240 ccm obiger Lösung, von welcher 1 ccm 0,995 Kal. aufnehmen kann = 238,8 im ganzen. Die spez. Wärme des absoluten Alkohols = 0,56 × 12,5 g = 7,0 Wasserwert, Summe also 238,8 + 7,0 = 245,8. Anfangswert = 246,5.

gorene Masse 243,1 als Wasserwert annehmen, wie ich unter ähnlicher Annahme für Zuckerlösungen gefunden habe.

Eine solche vergorene Flüssigkeit habe ich noch direkt untersucht. Sie hatte 1023 spez. Gewicht und 0,950 spez. Wärme. Dies macht als Wasserwert einer Füllung $1{,}023 \times 0{,}950 \times 250 = 242{,}9$, was gut mit der Anfangszahl übereingeht.

Ich komme also zu dem Schlufs, dafs für unsere gegenwärtigen Aufgaben bei kalorimetrischen Untersuchungen von einer komplizierten Darstellung des Wasserwertes gärender Flüssigkeit abgesehen werden kann.

Für die Hefe (25 % Trockensubstanz) habe ich mehrere Messungen gemacht und fand 0,785 als spez. Wärme für die feuchte Hefe.

Der Wasserwert einer Füllung setzt sich also beispielsweise aus folgenden Gröfsen zusammen:

Nährflüssigkeit 250 ccm	246,5
Kalorimeter	15,3
Thermometer	1,1
Hefe	3,9
Wasserwert im ganzen	266,8.

Auf Grund der Wasserwerte sind wir in der Lage, bei jeder Veränderung der Temperatur des Kalorimeters anzugeben, wieviel Kalorien an Wärme aufgespeichert und wieviel verloren worden sind; dabei wird sich natürlich bei der Abkühlung der Kalorimeter der Fall ereignen, dafs bei Berechnung des Wärmeverlustes des Kalorimeters nach den Eichungszahlen und nach Abzug des Wärmeverlustes durch die Abkühlung des Kalorimeters der Wert Null gefunden wird, d. h. in diesem Falle die Wärmeproduktion aufgehoben war, das Kalorimeter folgt dann einfach noch den Gesetzen der Abkühlung. Es gibt nur einen Fall, in welchem der Wert der aus der Abkühlung des Kalorimeters bzw. aus der Veränderung seines Wasserwertes abgeleitet werden kann, gröfser ist als der Wert, der sich nach der Eichungszahl ergibt. Es wird sich dabei stets nur um kleine Differenzen handeln. Man sieht

aber solche Vorkommnisse zum Schlufs der Versuchszeit, wenn die Gasblasen, die über der Flüssigkeit liegen, platzen und die Kohlensäure das Kalorimeter verläfst.

Dabei wird ein rascheres Sinken eintreten, als durch die sonstigen Umstände zu erwarten wäre, meist handelt es sich nur um wenige Kalorien.

Um einmal den Gang der Rechnung eines Versuches zu zeigen, möchte ich nachstehend ein Beispiel einer solchen Ausrechnung im einzelnen darlegen, und ich verweise dann in Zukunft auf die hier gegebene Unterlage.

Tabelle I.

Berechnungsbeispiel.

Füllung 10 % Rohrzucker, 5 g Reinkulturhefe.

Stunden a	Temperatur zu Ende der betr. Zeit b	Differenz zur vorhergehend. Temperatur c	Eichungswert Mittel in g Kal. d	Änderung des Wärmegehaltes der Kalorimeter in g Kal. e	Summe g Kal. f
2	1,30°		86	+ 337	423
		+ 0,50			
4	1,80°		155	+ 130	285
		+ 0,20			
6	2,00°		190	+ 52	242
		+ 0,05			
8	2,05°		202	13	215
		— 0,05			
10	2,00°		202	— 13	189
		— 0,10			
12	1,90°		195	— 26	169
		— 0,10			
14	1,80°		185	— 26	159
		— 0,10			
16	1,63°		171	— 44	127
		— 0,17			

Die Wärmen sind für je 2 Stunden berechnet: sie summieren sich teils aus der Änderung der Temperatur des Kalorimeters und dessen Wärmevorrat, Stab e, teils aus dem Wärmeverlust des Kalorimeters und der Eichungszahl für die Abkühlung, Stab d. Ich habe nur eine kurze Zusammenstellung gegeben. Da manche Experimente 3 und 4 Tage in Anspruch nehmen, ist das Zahlen-

material und Rechenpensum eines Versuchs mit Kontrollierung der Zahlen leider eine sehr mühevolle Aufgabe.[1])

Bei Betrachtung der Versuche mufs man noch in Erwägung ziehen, dafs die Kohlensäure, welche sich aus dem Kalorimeterraum verflüchtigt und verflüchtigen mufs, auch eine bestimmte Menge Wasserdampfs mit sich führt. Diese Gröfse läfst sich offenbar rechnerisch ableiten, denn die Kohlensäure verläfst das Kalorimeter, nachdem sie sich für die betreffende Temperatur mit Wasserdampf gesättigt hat. Die Gröfse des Wasserverlustes wird also mit der Temperatur des Brutraums, in welchem die Kalorimeter stehen, wechseln. Um allem Zweifel überhoben zu sein, habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt. Für alle Temperaturen, welche für meine Experimente in Frage kommen, habe ich Vorversuche gemacht, indem ich auf die Kalorimeter einen mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllten Absorptionsapparat brachte, der in die Öffnung eines Kautschukpfropfens eingesetzt wurde. Es mufsten sonach alle sich entwickelnden Gase ausschliefslich durch diesen Absorptionsapparat hindurchgehen, wobei der Wasserdampf und etwa verdunstender Alkohol in der Schwefelsäure zurückbleiben. Ich möchte aber gleich bemerken, dafs der Verlust von Alkohol mit dem Gase ein ganz minimaler ist; man mag sich dabei nur daran erinnern, in welch geringer Konzentration bei der Destillation selbst hochprozentiger alkoholischer Flüssigkeiten der Alkohol in der Vorlage enthalten ist. Kommen wir auf den Wasserverlust zurück, so steht dieser mit der Menge der entwickelten Kohlensäure in ganz engem Zusammenhang, und es läfst sich aus meinen Beobachtungen genau ableiten, wieviel wir in jedem Falle auf Wasserverlust zu beziehen haben. Durch das verdampfende Wasser wird selbstredend ein gewisser Verlust an Erwärmung herbeigeführt und dieser kann nach dem Experiment auf Grund meiner experimentellen Untersuchungen leicht abgeglichen werden.

1) Der Wasserwert des Kalorimeters war in diesem Versuch 260,4, die Eichungszahl 50,0 g Kal. pro 1° und 1 Stunde. Für die erste Periode erhält man den richtigen Mittelwert, wenn man den Einstundenwert der zweiten Stunde mit 1,32 multipliziert.

Die aus dem Gärgefäfs sich entwickelnde Kohlensäure kann eine gewisse Menge von Wärme mit sich führen; ich habe sie unberücksichtigt gelassen.

Diese Vernachlässigung des Wärmeverlustes durch die Kohlensäure kann irgendeinen Einflufs nicht geübt haben; dazu sind die auf diese Quellen des Wärmeverlustes zu beziehenden Wärmemengen zu gering. Hier, wie auch in der Bestimmung des Wasserdampfverlustes, können unmöglich nennenswerte Fehler sich einschleichen.

Bei den Beobachtungen spielt schliefslich auch noch die Absorption der Kohlensäure eine Rolle.

Wenn Kohlensäure durch Schütteln mit Wasser zur Absorption gebracht wird, so wird dabei Wärme frei. Bei der Gärung entsteht so reichlich Kohlensäure, dafs wir es mit Flüssigkeiten zu tun haben, welche, wie man annimmt, mit Kohlensäure gesättigt sind. Es ist aber keineswegs eine zutreffende Annahme, dafs man ohne weiteres aus dem Absorptionsvermögen einer gärenden Flüssigkeit den Gehalt an Kohlensäure bestimmen könnte. Ich habe zahlreiche direkte Experimente angestellt, die unter sehr verschiedenen Umständen zur Durchführung gekommen sind, aus welchen sich ergibt, dafs die Kohlensäure keineswegs nur einfach absorbiert in der Flüssigkeit vorhanden ist. Man findet nämlich zum Anfang der Gärung oft doppelt soviel Kohlensäure, als durch einfache Absorption erklärt werden kann. Offenbar handelt es sich darum, dafs Kohlensäure in den Hefezellen noch eingeschlossen ist und aufserdem, dafs Kohlensäure, namentlich an der Oberfläche der Hefezellen, festgehalten wird. Die Absorption der Kohlensäure läfst zu Anfang des Versuchs aus der gleichen Menge Zucker etwas mehr Wärme entstehen als später, wenn das Maximum des Kohlensäuregehalts der Flüssigkeit schon überschritten ist. Ich habe für die wichtigsten Bedingungen des Experiments den Kohlensäuregehalt der gärenden Flüssigkeiten näher untersucht und gebe darüber kurz folgende Zahlen.

(Siehe Tabelle II auf S. 376.)

Tabelle II.

Kohlensäuremenge in gärender Zuckerlösung in Gramm pro 250 ccm Flüssigkeit.

Zeit nach Beginn	38°	28°	22°
1/2 Std.	0,409	0,276	0,209
1 »	0,609	0,462	0,407
1 1/2 »	0,537	—	—
2 »	0,542	0,436	0,458
3 »	—	0,424	0,513
24 »	0,230	0,454	—
48 »	0,230	0,300	0,372

1 g CO_2 liefert 0,127 kg Kal. Lösungswärme. Man kann also leicht berechnen, wieviel Wärme durch Absorption gebildet wird. Nach den Angaben der Literatur (Landolt und Bernstein, Tafel 90c) wird von CO_2 absorbiert:

bei 23°	0,7980
» 37°	0,5690
Mittel 30°	0,6335 ccm bei 760 mm Druck.

also rund für 250 ccm 0,314 g. Der tatsächliche Befund in einer ausgegorenen Zuckerlösung kommt nahe an diesen Wert.

Ich habe noch eine 10proz. Rohrzuckerlösung ohne Hefe mit CO_2 gesättigt und

bei 18° in 250 ccm 0,372 und
» 38° » 250 » 0,240 g

gefunden. Auch diese Werte stimmen gut mit den Ergebnissen in der ausgegorenen Flüssigkeit überein.

Für manche Fragen ist die Veränderlichkeit der Temperatur des Kalorimeters nicht ausschlaggebend. Dies sind solche Fälle, in welche man eine Gärung bis zur völligen Beendigung derselben verfolgt. Unter diesen Umständen braucht man eine genaue Kenntnis der spez. Wärme der vergorenen Flüssigkeit überhaupt

nicht zu besitzen, man kann vielmehr aus der Temperaturkurve allein die Wärmebildung berechnen.

Für diese Fälle erleichtert man sich die Arbeit aufserordentlich, wenn man eine einfache Ausmessung der Kurve mittels eines Planimeters vornimmt.

Zur Ausführung der Versuche sind eine Reihe von technischen Einrichtungen unbedingt notwendig, auf welche ich in Kürze eingehen will. Vor allem handelt es sich darum, einen Raum zu besitzen für die Aufstellung der Kalorimeter, welcher sich in seiner Temperatur absolut gleichmäfsig verhält. Bei der gewöhnlichen Stubenofenheizung wird man keineswegs auf genügend gleichmäfsige Temperatur rechnen können. Ich habe daher den Versuchsraum durch Gasheizung erwärmtund einen Gasheizungsofen nach dem System Siemens durch eine besondere Regulationsvorrichtung, welche auf beliebige Temperatur eingestellt werden kann, im Betriebe gehalten. Diese Regulationsvorrichtungen unter dem Namen Pantostat (jetzt Autostat) sind mir bereits bekannt gewesen und haben sich aufserordentlich gut bewährt. Es ist mit Hilfe derselben möglich, die Temperatur einer Stube auf 1—2° genau festzuhalten.

In diesem Zimmer befinden sich nun die Brutschränke, in denen die Kalorimeter eingeschlossen sind. Die Regulierung der Temperatur des Brutschranks wird durch einen Gasdruckregulator gewährleistet, welcher die gröfseren Schwankungen des Gasdrucks ausgleicht und durch einen der üblichen Regulatoren, welcher an dem Brutschrank selbst angebracht ist. So wird es möglich, die Temperaturschwankungen auf ein Minimum herunterzusetzen oder dieselben so langsam verlaufen zu machen, so dafs dadurch besondere Schwierigkeiten für das Experiment nicht entstehen.

Die Füllung der Kalorimeter ist durchaus nicht einfach und auch technisch nicht so leicht, als dafs ich über dieselbe ganz hinweggehen könnte. Es ist natürlich selbstverständlich, dafs die Kalorimeter mit ihrem Inhalt so eingesetzt werden, dafs sie von vornherein die gleiche Temperatur mit dem Brutschrank besitzen. Die Temperatur des Brutraums wird

durch ein Kalorimeter gemessen, welches nur mit Wasser gefüllt ist. (Vergleichskalorimeter.)[1])

Dieser Forderung kann man aber nicht immer leicht nachkommen, man wird damit rechnen müssen, dafs bei dem Eingiefsen der Flüssigkeit in das Kalorimeter bereits Veränderungen vor sich gehen. Ich habe aber bei der Arbeit gefunden, dafs man durch einige Erfahrungen sehr wohl in der Lage ist, die Temperatur der Flüssigkeit, die man in das Kalorimeter giefst, so zu regulieren, dafs nach dem Eingiefsen der Flüssigkeit eine sozusagen völlige Übereinstimmung mit der Temperatur des Brutraums herrscht. Eine Schwierigkeit anderer Art liegt in solchen Fällen vor, in welchen chemische Reaktionen sofort nach dem Mischen der Flüssigkeiten eintreten, als z. B. bei der Mischung von Hefezellen und Zuckerlösung. In diesem Falle wird man darauf Bedacht nehmen müssen, zuerst die Hefe mit reinem Wasser anzurühren und dann in diese Mischung die vorbereitete Zuckerlösung einzugiefsen. Unter diesen Umständen hat man sehr rasch die ganze Vorbereitung der Nährflüssigkeit ausgeführt und wird nun diese in das Kalorimeter hineinbringen können, ohne dafs eine nennenswerte Erhöhung über die Brutschranktemperatur zustande kommt.

Die Zerlegung des Zuckers mit Hefezellen ist unter Umständen so rasch, dafs sie, wenn man diesen Punkt, den ich eben berührte, nicht näher beachten wollte, noch aufserhalb des Kalorimeters eintreten kann. Bei dem Verhältnis von Zucker und Hefe wie 1 zu 1 ist diese Gefahr der frühzeitigen Erwärmung eine sehr bedeutende, sinkt aber das Hefegewicht zum Zuckergewicht, so ist die Reaktion eine träge.

Die für die Versuche verwendeten Temperaturen sind verschiedene, je nach der Gröfse und Höhe der zu erwartenden Temperatur. Es ist nicht durchführbar, die feine Teilung auf der Skala zu erreichen mittels eines Thermometers, das etwa für alle in Frage kommende Experimente tauglich wäre.

---

1) Es mufs mit annähernd ebensoviel Wasser gefüllt sein, dafs die Wasserwerte der Versuchskalorimeter damit übereinstimmen.

Es kommen Fälle vor, in welchen die Erwärmung der Kalorimeter eine sehr starke wird. Unter diesen Umständen ist darauf zu achten, dafs eine gegenseitige Bestrahlung der Kalorimeter ausgeschlossen wird und diese Behinderung der Bestrahlung wird dadurch durchgeführt, dafs man zwischen die verschiedenen Kalorimeter Schirme, welche aus einem Material, welches für Wärme schlecht durchgängig ist, hergestellt sind, dazwischenschaltet.

Die Mischung der Kalorimeterflüssigkeit kann bei gärenden Flüssigkeiten unterbleiben, da durch die Kohlensäureentwicklung und durch die Bewegung der Hefe eine selbsttätige Mischung erzeugt wird. Allenfalls kann man durch die Drehung des Kalorimeters mittels des aufserhalb des Brutschranks befindlichen Thermometers eine Mischung herbeiführen.

Wenn wir uns nun den Fall denken, dafs ein Versuch im Gange ist, so wird je nach den verschiedenen Aufgaben in kürzerem oder längerem Zeitraum die Temperatur der Thermometer mit der Lupe abgelesen. Es wird nach der Art der Untersuchungen bald notwendig, kleinere Zwischenräume zu wählen, bald, wie z. B. bei Bakterien, auch lange Beobachtungszeiten zu benutzen erlaubt sein.

Einige Schwierigkeiten ergeben sich bei der uns zunächst interessierenden Alkoholgärung dadurch, dafs, wie ich schon kurz erwähnte, das Ferment aufserordentlich rapid wirkt; in diesem Falle wird man namentlich den ersten Anstieg der Temperatur ganz genau verfolgen müssen.

Hat man den Versuch abgeschlossen, so werden die einzelnen Temperaturen auf ein Kurvenpapier aufgezeichnet und die Kurve ausgezogen und auf diese Weise eine Interpolation der Werte ermöglicht.

Es wäre freilich angenehm, eine Registriervorrichtung zu besitzen, doch bin ich bisher zu einer solchen, die sich leicht durchführen liefse, nicht übergegangen. Es wird sich bei dem Experiment immer zeigen, dafs natürlich die Beobachtungen während einzelner Nachtstunden ausfallen müssen.

Wenn man aber den Gang der Wärmebildung bei einem Experiment im Versuche festgestellt hat, so wird es nicht schwierig

sein, die Anordnungen des Anfangs eines Experiments so zu wählen, daſs die schnelleren Schwankungen der Temperatur alle in die Tageszeit hineinfallen, während der einfache Abfall der Kurve, der gleichmäſsig sich gestaltet, in den Nachtstunden erfolgt.

Nötigenfalls habe ich in folgender Weise eine Abhilfe gefunden: Man ist wegen der Veränderlichkeit, die sich ja bei allen Lebewesen zeigt, natürlich auch bei den Pilzen, gezwungen, mit unvermeidlichen Fehlern des Experiments zu rechnen. Daher wird es notwendig sein, Versuche zu wiederholen und die »individuellen« Eigentümlichkeiten durch die Mehrzahl der Experimente tunlichst auszuschlieſsen. Man wird ohnedies mehrfache Versuche ausführen müssen; diese ordnet man dann in der Weise, daſs die Anfangszeiten des Experiments in verschiedene Tagesstunden fallen, so daſs man für jede einzelne Stunde des Experimentes direkte Beobachtungen zur Verfügung hat.

Ganz besonderen Nachdruck muſs man hierauf legen — wenn es sich um rasch ändernde Kurven handelt — daſs der Gipfel einer solchen Kurve ganz exakt und sicher festgestellt wird. Oft fällt derselbe in die zwölfte Stunde, oft findet man denselben in der ersten Stunde. Somit wird man mit den einzelnen Experimenten ganz verschieden verfahren müssen. Ich bin nicht in der Lage, mich hierüber weiter auszusprechen, es werden aber die Angaben genügen, für die Versuche den richtigen Weg zu weisen.

Bei dem Anstieg der Temperatur in den ersten zwei Stunden ist es notwendig, sich zu vergegenwärtigen, daſs derselbe sehr häufig nicht in einer geraden Linie erfolgt, sondern in einer Kurve, die man am besten durch ein Vorexperiment feststellt. Ich habe für die häufigsten Experimente diese Kurve durch besondere Untersuchungen gefunden.

Wenn diese Hauptwärmeproduktion vorüber ist, so sinkt das Kalorimeter langsam ab und in diesem Falle kann man sogar gelegentlich beobachten, daſs eine eigene Wärmeproduktion ganz erloschen ist, also das Kalorimeter den Gesetzen der Erkaltung entspricht. Ja es kommt, wenn auch in seltenen Fällen, eine Erscheinung in Beobachtung, nämlich die Tatsache, daſs das

Kalorimeter mehr an Wärme verliert, als man aus den Eichungen des Wärmeverlustes schliefsen möchte. Diese Erscheinung ist, wie ich schon oben erwähnte, auf das Entweichen der Kohlensäure unter gleichzeitigem Zusammenfallen des Schaumes der gärenden Flüssigkeit zurückzuführen.

Hat man die Wärmeproduktion aus den Einzelwerten durch Summation gefunden oder durch Berechnung aus der planimetrischen Zahl, so ist diese Zahl nicht immer unmittelbar zu verwerten. Man wird sich, und ich habe dies oben schon erwähnt, unter Umständen zu einer Reihe von Korrekturen entschliefsen müssen.

Die gefundene Wärme ist einerseits vermehrt worden dadurch, dafs noch ein bestimmter Teil der Kohlensäure in der Gärflüssigkeit absorbiert enthalten ist. Bei der Absorption der Kohlensäure in Wasser wird Wärme frei. Wenn ich also das Ergebnis des Versuchs auf einheitliche Bedingungen rechnen will, so mufs für den Fall, dafs die Kohlensäure gasförmig zu rechnen sei, von dem gesamten Resultat noch die Absorptionswärme der Kohlensäure in Abzug gebracht werden.

Bei Experimenten, wie bei der Alkoholgärung, wird durch die reichentwickelten Gase, wie schon früher gesagt worden ist, Wasserdampf fortgeführt und damit ein gewisser Verlust von Wärme erzeugt. Dieser Wärmeverlust mufs durch Rechnung bestimmt werden, indem man die Verdunstungswärme des zu Verlust gegangenen Wassers hinzurechnet.

Wir werden in der Folge dies näher zu entscheiden haben, ob wir bei den Gärungen die Kohlensäure als Gas oder als gelöst in Berechnung ziehen wollen. Für den letzteren Fall müssen wir dann die Lösungswärme der gesamten Kohlensäure in Rechnung ziehen. Dieselbe ist bekannt. Da die Zerlegung des Zuckers in der Flüssigkeit vor sich geht und die CO_2 nicht als Gas auftreten mufs, so braucht auch keine Energie zu ihrer Verdunstung benutzt zu werden. Insofern wäre also die Rechnungsweise ganz glatt.

In Praxis gestaltet sich die Sache aber wohl wesentlich anders, gar bald ist eine gärende Flüssigkeit bis zur Sättigung mit

Kohlensäure beladen und die Gasblasen treten auf im Maſse zur fortschreitenden Gärung.

Immerhin aber müssen wir doch annehmen, daſs bei dem Akte der Gärung, der innerhalb der Zelle verlaufen muſs, zunächst Kohlensäure als flüssig zu denken ist.

Diese Zymase ist bis jetzt nie auſserhalb der intakten Hefezellen gefunden worden, somit müſste man den Ort der Alkoholbildung in die Hefezellen selbst verlegen, und hier ist kein Raum für die Bildung von gasförmiger Kohlensäure — wohl aber auſserhalb und im nächsten Umkreise der Zellen. Die Oberfläche der Zellen ist reich mit Gasblasen bedeckt; daher auch ihre Beweglichkeit und Unruhe.

Allerdings vertrat Nägeli[1]) eine andere Anschauung, indem er aus dem hemmenden Einfluſs, welchen gärende Zellen auf Fäulnispilze ausüben sollen, auf eine Fernwirkung der Alkohol erzeugenden Ursache bis $^1/_{30}$ oder $^1/_{50}$ mm schloſs. Ich kann nicht finden, daſs die Verhältnisse zur Annahme einer solchen Fernwirkung unbedingt drängen, da die gärende Zelle reichlich über Mittel verfügt, andere Zellen in dem Konkurrenzkampfe zu stören und zu hemmen. Vor allem kann die reichliche Kohlensäureentwicklung, ferner die Säuerung der Nährflüssigkeit an sich, ein solches Zurückdrängen anderer Keime zum mindesten wahrscheinlich machen.

IV.

Unter den verschiedenen Lebenserscheinungen, welche bei der Alkoholgärung eine Rolle spielen, möchte ich zunächst die Frage betreffend die Gröſse der Gärungswärme behandeln. Unter Gärungswärme verstehe ich in diesem Falle die bei der Spaltung der Zuckerarten durch Zymase oder durch lebende Hefe erzeugte Wärme.

Ich habe schon früher erwähnt, daſs gerade sie einzig und allein bis jetzt Interesse erweckt zu haben scheint. Auf dieselbe einzugehen ist um so notwendiger, als die bisherigen Beobachter

1) Nägeli, Theorie der Gärung 1879. S. 31 und S. 46.

die Technik der Wärmemessung unter den komplizierten Verhältnissen solcher Experimente offenbar nicht ausreichend zu beherrschen in der Lage waren.

Die älteste Angabe ist die von Dubrunfaut, welcher 21,4 cbm einer Rohrzuckerlösung vergären liefs; er hat dabei, während die Flüssigkeit in einem Bottich aus Eichenholz vergor, die bei einem Gärversuch sich entwickelnde Wärme gemessen, ferner den Wärmeverlust des Gefäfses korrigiert und einige sonstige Wärmeverluste in Rechnung gestellt.

Nägeli[1]) ist der Meinung, dafs Dubrunfaut dabei eine Reihe von Fehlern mituntergelaufen seien. Wenn man die Zahlen von Dubrunfaut näher betrachtet, so kann man Nägeli nur recht geben, wenn man auch seinen Ausführungen im Detail nicht beipflichten kann.

Die Zahlen von Dubrunfaut können kaum als eine rohe Annäherung gelten, ein auch nur einigermafsen taugliches Resultat geben sie nicht. Es fehlt eine Grundlage für die Menge der in Aktion tretenden Hefe, die spezifische Wärme der Flüssigkeit war ihm nicht bekannt, die Annahme über die durch Kohlensäureverdunstung verlorene Wärme ist, wie auch Nägeli mit Recht betont, viel zu klein.

Ich möchte aber ohne Korrektur an den tatsächlichen Beobachtungen von Dubrunfaut doch einige Ungenauigkeiten seiner Rechnung ausscheiden, da ein Experiment im grofsen Stile, wie das von Dubrunfaut, immerhin einiges Interesse hat und behalten mufs.[2])

Nach meinen Feststellungen würde ich als Wasserwert seiner Lösung von Rohrzucker 21,060 kg annehmen dürfen, dann käme man zu folgender Rechnung:

21,06 × 14,05 . . . . =	295,893 Kal.
vom Bottich aufgenommen	7,280 »
19,236 kg Wasser verdunstet (× 600)	11,542 »
Summe	314,715 Kal.

1) Gärung a. a. O.

2) Nägeli, a. a. O. S. 58.

Transport:	314,715 Kal.
abgezogen für absorbierte CO_2 in der Gärflüssigkeit (21,4 cbm $\times$ 1,03 $\times$ 2 $\times$ 127) und Absorptionswärme . . .	5,588 »
	309,127 Kal.

$\frac{309,127}{2,559}$ = **120,9** g Kal. pro **1 g Rohrzucker** für freie Entwicklung der Kohlensäure. Der wundeste Punkt dieser ganzen Versuchsreihe liegt in der Berechnung des Wärmeverlustes durch Abkühlung. Direkt gemessen wurden in vier Tagen 10,05° Temperaturerhöhung, wozu als Korrektur 4° hinzugerechnet werden. Letztere beträgt also nicht weniger als 40%.

Bestimmungen der bei der Alkoholgärung freiwerdenden Wärme hat auch Bouffard ausgeführt. Nach der Gleichung von Gay-Lussac berechneten Favre und Silbermann die bei der Alkoholgärung entbundene Wärme in folgender Weise:

$C_6H_{12}O_6$-Lösung = 2 C_2H_6O-Lösung + 2 CO_2 Gas = 265 + 2 (74 + 94) = + 71 Kalorien. Nach der Korrektur der Verbrennungswärmen von Berthelot (1895) führt die Rechnung zu folgendem Resultat: — 300,4 + 2 (72,4 + 94,3) = + 33 Kalorien.

Behufs gröſserer Genauigkeit sollte man die Gärungsgleichung von Pasteur in Betracht ziehen. Nach dieser zersetzt sich das Zuckermolekül — 180 g — in folgender Weise:

1. 171,7 g in Alkohol und Kohlensäureanhydrid unter Entbindung von 31,47 Kalorien.
2. 8,3 g in Glyzerin, Bernsteinsäure und Kohlensäure unter Entbindung von 0,6 Kalorien.

In Summa pro Zuckermolekül 32,07 Kalorien.

Bouffard hat eine direkte Messung angestellt, indem er im Kalorimeter von Berthelot einerseits die Menge der entbundenen Wärme, anderseits die Menge des in derselben Zeit zersetzten Zuckers bestimmte. Um eine rasche Vergärung zu erzielen, nahm Bouffard Traubenmost mit ca. 130 g Zucker pro Liter, setzte hierzu 1 g Ammonphosphat und stellte ihn mit reiner und wirksamer Hefe an. So verschwanden vom Zucker binnen 2 Stunden 8—10 g bei 23°, während die Temperatur um 1° stieg.

Zur Bestimmung des verschwundenen Zuckers erschien die Fehlingsche Lösung nicht empfindlich genug und wurde die Zuckervergärung aus der entbundenen Kohlensäure berechnet. Das gefundene Kohlensäuregewicht wurde nach Pasteur mit dem Faktor $\frac{105,65}{46}$ multipliziert, und so erhielt man das Gewicht des binnen zwei Stunden zersetzten Zuckers, das zwischen 8,6 bis 10,36 g schwankte.

Nachdem man so die Anzahl der entbundenen Kalorien 1,239—1,355 Kalorien und die Menge des während derselben Zeit vergorenen Zuckers kannte, war es leicht, die von einem Zuckermolekül herrührende Wärme zu berechnen.

Folgende Tabelle enthält die 4 Versuche. Versuch 3 hat nur 1 Stunde gedauert und hat für die Abkühlung keine Korrektur erhalten, die anderen Versuche dauerten 2 Stunden.

Tabelle III.

	1.	2.	3.	4.
Temperaturzuwachs der Kalorien	0,84	1,105	0,62	0,91
Abkühlungskorrektion	0,27	0,155	—	0,225
Wärmewert der Kalorien und Füllung	1,090	1,283	0,653	1,168
Kalorien durch Verdampfung verloren	0,036	0,048	0,024	0,050
Durch die CO_2 verloren	0,020	0,024	0,012	0,021
Totalmenge	1,1338	1,355	0,689	1,235
Zucker, zersetzt	8,6	10,36	5,24	9,50
Kalorien pro 1 Mol. Dextrose = 180 g	28,7	23,5	23,6	23,4
Pro 1 g Dextrose	131,7	130,8	131,5	130,4

Die Versuche ergaben statt der erwarteten 32,07 nur 23,5 Kalorien im Mittel = **131,5 g Kal. pro 1 g Dextrose.** Das Bedenklichste an den Versuchen Bouffards ist die grofse Korrektion für die Abkühlung, wie auch Brown meint. Sie ist nur mit mäfsiger Genauigkeit zu erreichen. Es mag darauf hingewiesen sein, dafs bei Bouffard Hefe gewachsen sein mufs; bei Dubrunfaut, der nur Rohrzucker angewandt hat, würde dies nicht der Fall gewesen sein.

In neuerer Zeit hat Brown[1]) in Bierwürze 4 Versuche angestellt und aus diesen als wahrscheinlichsten Wert **119,2 g Kal.** pro 1 g Maltose abgeleitet (342 $\times$ 119,2) = 40,7 Kal. pro 1 Molekül. Umgerechnet auf Dextrose ergibt die Zahl pro Molekül 21,4 Kal. (für Kohlensäure als Gas gerechnet).

Sonach wäre Folgendes das Ergebnis der bisherigen Versuche:
Gärwärme bei Rohrzucker pro Gramm nach meiner

Umrechnung der Zahlen von Dubrunfaut .	120,9 g Kal.
Für Traubenzucker nach Bouffard	131,5 »
Für Maltose nach Brown	119,2 »

V.

Die Bestimmung der Gärwärme im direkten Experiment ist also in der Tat gewifs erwünscht, und wenn auch das Experiment mancherlei Schwierigkeiten entgegensetzt, so hat es doch den Vorzug einer direkten Messung der bei der Gärung vorkommenden Umsetzungen, und nicht den Nachteil der theoretischen Berechnungen, welche neben den Fehlern der Wärmemessung noch die Ungewifsheit der Umsetzungsformeln mit in den Kauf nehmen müssen.

Zur Berechnung der Gärwärme stehen mir eine ganze Reihe unter verschiedenen Bedingungen sorgfältig ausgeführter Versuche zu Gebote, zum Teil habe ich bei der Bestimmung der Gärungswärme die Menge des Rohrzuckers in der Lösung gewechselt, somit 20 % Lösungen und 10 %, 5 % bis zu 1,25 % herab angewendet, desgleichen hat auch die angewendete Hefemenge eine Änderung erfahren. Weiters habe ich die Temperatur in den Kreis der Beobachtung gezogen. Ich habe einen Teil der Experimente bei 22°, bei 28° und bei 38° Wärme ausgeführt.

Ich will zuerst auf die Experimente mit 10proz. Lösung und 5 g Hefezusatz eingehen.

Zunächst wäre anzugeben, welche Menge von Wärme sich aus dem Experiment direkt berechnet, ferner ist dann in Betracht zu ziehen, dafs in dieser Flüssigkeit noch eine Menge von

1) Journal of the Federated Institutes of Brewing 1901. I, S. 93—103. S. auch Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen XXIV, S. 273.

Kohlensäure absorbiert enthalten ist. Will man also die Menge der Wärme kennen lernen unter der Annahme, dafs die Kohlensäure ganz als Gas entwickelt sei, so ist von dem Ergebnis des Experiments selbst die Lösungswärme der Kohlensäure in Abzug zu bringen. Die Lösung von 1 g Kohlensäure wird nach den bisherigen Annahmen mit 127 g Kal. berechnet, und da ich aufserdem die in der Nährlösung enthaltene Kohlensäure bestimmt habe, so läfst sich mit genügender Genauigkeit diese eine Korrektur ableiten.

Nun ist aber bei der Gärung durch die entweichende Kohlensäure eine gewisse Menge von Wasserdampf zu Verlust gegangen. Wie dieser Verlust bestimmt worden ist, habe ich schon früher angegeben. Ich habe einerseits angenommen, dafs die Kohlensäure, bei den Experimenten mit Wasserdampf gesättigt, für die Temperatur des Kalorimeters entweicht. Ich habe aber aufserdem durch direkte Experimente festgestellt, dafs diese Annahme der Tatsache entspricht.

Für die Berechnung des Wasserdampfes ist es also notwendig, die Menge der erzeugten Kohlensäure kennen zu lernen. Für die Bestimmungen der Menge von Kohlensäure, welche bei der Zerlegung von Zucker frei wird, liegen einerseits zahlreiche Angaben von Pasteur vor, anderseits hat Jodlbauer vor einigen Jahren äufserst sorgfältige neue Experimente angestellt.[1])

Nach Pasteur werden aus 100 Teilen Zucker 49,4 Teile Kohlensäure gebildet, nach Jodlbauer 49,0. Ich habe diese letztere Annahme für meine Experimente zugrunde gelegt. Die Menge des Zuckers, welche in dem Versuche angewandt wurde, kann nicht der Menge, welche ursprünglich angewandt wurde, gleichgestellt werden. Ich habe durch besondere Versuche festgestellt, wieviel bei dem Mischen in der Reibschale, ferner beim Eingiefsen der Zuckerlösung durch Benetzung des Trichters zu Verlust geht. Die Gröfse ist für die verschiedenen Konzentrationen der Zuckerlösung besonders bestimmt worden. Die Menge des nach dem Experiment noch vorhandenen Zuckers

1) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1888.

wurde durch die Titrierungen nach Allihn festgestellt. Sie betrug bei diesen Experimenten meist nur Bruchteile eines Gramms, weil eine komplette Zerlegung des Zuckers tunlichst abgewartet wurde.

Berechnet man die Menge der Kohlensäure, die sich aus der zur Wirkung gekommenen Zuckerlösung ableitet, und zieht davon die Kohlensäuremenge ab, welche durch Absorption in der Gärflüssigkeit zurückgeblieben war, so erhält man die zu Verlust gegangene Kohlensäure und kann hieraus die mit der Kohlensäure entwichene Wasserdampfmenge ableiten. Da die Verdampfungswärme des Wassers bekannt ist, so läfst sich die Korrektur für den Wärmeverlust durch Wasserverdunstung genau feststellen. Dieser Verlust ist übrigens, wie ich bemerke, ein sehr geringer und der Einflufs auf das Schlufsresultat bei Stubentemperatur mit etwa 2 % des Wertes, bei 38° mit etwa 6 % der ganzen Wärmesumme, zu bemessen. Somit kommen kleine Fehler bei der Berechnung des Wasserdampfes für das gesamte Resultat gar nicht in Betracht.

Es kann nun von vornherein fraglich sein, ob wir die Gärungswärme nur für die Kohlensäure als Gas berechnen sollen, oder ob es nicht zweckmäfsiger ist, in Betracht zu ziehen, dafs die Kohlensäure im Moment der Entstehung der Gärflüssigkeit im gelösten Zustande auftritt.

Ich glaube annehmen zu dürfen, dafs es auch von Interesse ist, dafs man sich die Kohlensäure als gelöst vorstellt. Somit wollen wir die Gärwärme für die zwei Zustände berechnen, einmal für Kohlensäure als Gas und dann für Kohlensäure gelöst.

A. Gärungswärme des Rohrzuckers.

Hefeaussaat ohne Wachstum.

Eine grofse Anzahl von Versuchen habe ich mit 10 g (chemisch reinem) Rohrzucker und gewöhnlicher Bierhefe ausgeführt; es war stets 5 g Hefe zugegeben worden. Es hat kein Interesse, die Fülle einzelner Zahlen hier zu berichten; als Beispiel mag nachstehend eine Übersicht über die Wärmeproduktion

pro 2 Stunden (in g Kal.) gegeben sein, wie sich dieselbe unmittelbar aus den bei verschiedenen Temperaturen angestellten Experimenten ableiten liefs.

Tabelle IV.

Zeit	23,6°	30,1°	38,1°	Zeit	23,6°	30,1°	38,1°
2	484	583	710	26	112	126	45
4	257	294	380	28	120	102	53
6	201	258	325	30	110	97	48
8	190	240	334	32	89	75	32
10	177	231	305	34	99	73	76
12	175	215	282	36	95	65	17
14	178	201	265	38	82	53	22
16	179	187	232	40	83	46	—
18	158	170	180	42	79	36	—
20	155	161	141	44	73	25	—
22	146	149	138	46	81	11	—
24	140	144	83	48	73	—	—

Die gewählten Verhältnisse der Konzentration und der Hefemenge sind die günstigsten für das Experiment. Bei viel Hefe und wenig Zucker ist gar leicht ein Heraustreiben von Flüssigkeit aus dem Kalorimeter zu befürchten, wodurch dann der Versuch verloren ist.

Die Mittelzahlen lassen sich zur Berechnung der Gärungswärme in folgender Weise verwerten:

	38° direkt gemessen	28° direkt gemessen	22° direkt gemessen	
	3578 g Kal.	3570 g Kal.	3529 g Kal.	
davon gehen ab:	29	38	47	(CO_2, Absorptionswärme.)
	3549	3532	3482	
hierzu:	208	132	74	(H_2O, Verdampfungswärme.)
	3757 g Kal.	3664 g Kal.	3556 g Kal.	Summe.

Zersetzt: 24,8 Rohrzucker, 24,54 Rohrzucker, 24,0 Rohrzucker.

Berechnet man hieraus die Gärungswärme des Rohrzuckers, so hat man:

bei 38°	bei 28°	bei 22°
151,5 g Kal.	149,3 g Kal.	148,2 g Kal.

Die Werte sind in allen Fällen gröfser als die von anderen Autoren erhaltenen, da auch Bouffard für Dextrose nur 131,5 erhalten hatte. Aus den Zahlen ersieht man, dafs die Gärungswärme offenbar unter verschiedenen Umständen sehr gleichmäfsige Werte ergibt. Es ist aber ersichtlich, dafs bei dem Wechsel der Temperaturen 22 und 38° kleine Verschiedenheiten in den Gärwerten bestehen. Die Verschiedenheiten können nicht auf Zufällen beruhen, dazu sind die Zahlen der Experimente zu grofs, und wir müssen also annehmen, dafs in der Tat die Höhe der Temperatur bis zu einem gewissen Grade eine Änderung in dem Spaltungsvorgange erzeugen kann.

Um die Mittelwerte noch weiter sicher zu stellen, stehen mir noch eine ganze Zahl weiterer Experimente zu Gebote.

Bei 28—30° betrug die Wärme, welche durch Vergärung einer 10proz. Rohrzuckerlösung mit 5 g Hefe erhalten worden war:

Zahl der Experimente	g Kal.
1	3557
2	3615
2	3551
18	3570
23 Versuche.	Mittel: 3569
ab für absorb. CO_2	38
	3531
Hinzu für verdampftes Wasser	132
	3673.

Somit für 1 g Rohrzucker gelöst 149,7 g Kal. als Gärungswärme (CO_2 als Gas).

Eine weitere Modifikation der Versuche habe ich noch hinsichtlich des Verdünnungsgrades der Nährlösung durchgeführt.

Zunächst wurde die Gärungswärme festgestellt für 50 g Zucker + 50 g Hefe (= 20% Zuckerlösung).

Erhalten wurden . . .	6554 g Kal.
Dazu verdampftes Wasser	430 »
Für CO_2 absorbiert . .	3035 »
Summe =	10019 g Kal.

Verbrauch: 49,4 g Rohrzucker, 1 g also = 292,8 Gärungswärme.

Bei 25 Zucker + 25 Hefe ergab sich im Mittel = (10proz. Lösung):

Erhalten im Kalorimeter-Versuch	3525
Dazu für Wasserverdampfung .	182
Für CO_2 absorbiert	1498
Summe	5205

24,8 g Zucker waren zersetzt. 1 g = 209,8 Gärungswärme.

12,0 g Zucker, 12,5 g Hefe (= 5proz. Lösung) lieferten im Mittel folgendes Ergebnis:

Erhalten	1850 g Kal.
Dazu für Wasserverdunstung .	85 »
Für Kohlensäure-Absorption .	723 »
Summe	2658 g Kal.

An Zucker verbraucht 12,4 g.

1 g Zucker als Gärungswärme 214,3 g Kal.

6,25 g Zucker, 6,25 g Hefe (= 2,5proz. Zuckerlösung).

Ergebnis:

Erhalten im Mittel	908 g Kal.
Dazu für Wasserverdunstung .	39 »
Dazu für Absorption der CO_2 .	351 »
Summe	1298 g Kal.

Zerlegt wurden 6,2 g Zucker; 1 g Zucker demnach 209,3 g Kal. als Gärungswärme.

Somit ist das Gesamtresultat für die Gärungswärme:

	CO_2 gelöst	CO_2 als Gas
20proz. Lösung .	202,9	140,7
10 » » .	209,8	147,9
5 » » .	214,3	152,9
2,5 » » .	209,3	147,9.

Am schwierigsten zu bestimmen war die Gärungswärme bei der 20proz. Lösung, denn dabei ist der Verlauf der Gärung so enorm rasch, namentlich in den ersten paar Stunden, dafs die Beobachtung des Wärmeganges des Kalorimeters sehr schwierig ist und zweifellos in den wenigen Minuten bis zur Füllung des Kalorimeters mit der Nährflüssigkeit schon etwas Wärme verloren geht.

Um dies begreiflich zu machen, will ich nur die Zahlen der ersten sechs Stunden hier anführen.

Man findet in g Kal.:

Zeit	20% Rohrz. 50 Hefe	10% Rohrz. 25 Hefe	5% Rohrz. 12,5 Hefe	2,5% Rohrz. 6,25 Hefe
2.	3154	1760	921	504
4.	1528	927	479	215
6.	820	472	255	166

Es wird nach diesen Zahlen die technische Schwierigkeit verständlich; auch ist zu dem früher schon Erwähnten noch hinzuzufügen, dafs der Berechnung des Wasserdampfverlustes wegen der rasch wechselnden Temperaturen gleichfalls eine gewisse Unsicherheit erwächst und zwar in dem Sinne, dafs die Berechnung etwas zu klein werden dürfte. Auf Grund der vorliegenden Resultate halte ich mich zu dem Schlusse für berechtigt, dafs die Gärungswärme innerhalb weiter Grenzen der Konzentration von letzterer unabhängig ist.

Versuche mit Reinkulturen.

Die Ausführung eines Reinkulturversuches macht naturgemäfs einen gröfseren Zeitaufwand für Vorbereitungen nötig, als die Anwendung der käuflichen Hefe: Speziell die Gewinnung der nötigen Mengen von Reinhefe ist eine unbequeme Aufgabe deshalb, weil man unsicher ist, mit welchem Wassergehalt die Hefezellen gewachsen sind, so dafs man die Menge der Aussaat nicht genau kennt.

Die zu Versuchen verwendete Reinkulturhefe stammt von zwei Spezies. Die eine trug den Namen »Pombe«. Sie wurde bei 37° 40 Stunden im Brutschrank belassen und blieb dann, als sie von Würzeagar abgenommen war, noch 24 Stunden auf Eis.

Vier gleichzeitig angestellte Versuche lieferten:

Wärmeproduktion bei 28°	3606 g Kal.
ab für absorb. CO_2	38 »
	3568 g Kal.
Für verdampftes Wasser	140 »
Summe	3708 g Kal.

Vergoren 24,2 g Rohrzucker, demnach die Gärungswärme **153,2** g Kal. für CO_2 als Gas.

Eine Reihe anderer Versuche wurden mit Hefe gemacht, deren Stamm uns mit der Nr. 696 zugegangen war. Die Behandlung und Ausführung der Experimente war die gleiche wie bei den vorigen Experimenten. Im Mittel von 6 Versuchen bei 27—28° für 24,65 g zersetzten Zuckers 3718 g Kal. pro toto = **150,8 g Kal. als Gärungswärme.** Die Zahl geht mit dem Werte für Pombe 153,2 ganz nahe überein.

B. Gärungswärme des Rohrzuckers und der Maltose bei wachsender Hefe.

Gärungswärme der Maltose. (Wachstum der Hefe.)

Reine Maltose wurde in Bierwürze gelöst und 250 ccm mit 2 ccm einer 10proz. Hefeaufschwemmung besät. (Aussaat = 0,002 g N.)

Der ganze Verlauf des Versuchs mag in seinem von einem Rohrzuckerversuch abweichenden Verhalten in nachfolgender Tabelle dargestellt werden.

Tabelle V.

Bierwürze und Maltose.

(Mittel von zwei Versuchen.)

Std.	g Kal.	Std.	g Kal.	Std.	g Kal.	Std.	g Kal.
2	238	26	110	50	56	74	38
4	191	28	104	52	53	76	36
6	194	30	99	54	47	78	42
8	108	32	93	56	51	80	30
10	121	34	86	58	53	82	21
12	126	36	89	60	46	84	28
14	126	38	74	62	45	86	28
16	126	40	69	64	46	88	28
18	126	42	69	66	45	90	28
20	126	44	58	68	47	92	28
22	124	46	56	70	42	94	28
24	110	48	55	72	40	96	28

Die Wärmesumme war . . .	3596
Davon ab für absorb. CO_2 . .	29
	3567
und dazu für verdunstetes Wasser	220
Summe	3787

Zuckerverbrauch . . . 25,7 g, davon ab für
unvermeidlichen Verlust . 0,2 g,

bleiben 25,5 g,

also $\frac{3787}{25,5}$ = 148,5 Gärungswärme für Maltose bei 38°.

Gewachsen war 0,042 g Hefe-N, somit 28% des Vorrates (0,150 pro 250 ccm Würze) assimiliert.

Die Ernte ist nicht grofs, man erhält manchmal unter ähnlichen Verhältnissen noch die Hälfte mehr, da der Versuch aber 96 Stunden währte, ohne ganz abgeschlossen zu sein, so kann wieder vielleicht etwas Hefe zu Verlust gegangen sein.

Merkwürdig war bei diesem Versuch die schnell ansteigende Wärmebildung zu Anfang der Reihe.

Wenn wir nun fragen, ob in diesen Fällen des Hefewachstums nicht etwa gewisse Bestandteile von Zucker zur Hefe als Aufbaumaterial getreten sein können, so ist dies für das vorliegende Experiment zu verneinen.

In obigem Versuch ist 0,042 g Hefe-N erzeugt worden. In der Hefe dieser Herkunft trifft auf 1 N 56,5 Kal. an Verbrennlichem, wir dürfen also ohne direkte Bestimmung der Verbrennungswärme dieser Ernte annehmen $0,042 \times 56,5 = 2,37$ Kal. sei an Wärmewert aufgebaut worden.

Nun ist aber ein grofser Teil des Hefeleibes Eiweifs, und dieses wurde der Bierwürze entnommen. Nehmen wir Hühnereiweifs als Grundlage, so finden sich in diesem auf 1 N 36,3 Kal.; $0,042 \times 36,3 = 1,52$ Kal. gibt uns die als Eiweifs zu rechnenden Kalorien, daher aus anderem Material entstanden.

$$\begin{array}{r} 2,37 \\ -\ 1,52 \\ \hline 0,85 \text{ Kal.} \end{array}$$

Dafs zur Deckung dieser 0,85 Kal. gerade Maltose verwendet worden sein müsse, kann man gewifs bestreiten, enthält doch die Bierwürze reichlich genug andere nährende Substanzen, um diesen kleinen Bedarf zu decken. Ich bin also der Überzeugung, dafs wir unter den obwaltenden Umständen auf eine Mitwirkung der Maltose beim Aufbau des Hefeleibs nicht zurückzugreifen brauchen.

Bierwürze und Rohrzucker.

Der Nährboden war Rohrzucker, in Bierwürze aufgenommen, und Rohrzucker mit Bierwürze, welche auf das Doppelte, Vierfache, Achtfache mit Wasser verdünnt war. Es wurde der Nährboden so vorbereitet, dafs 4 Proben zwar die gleiche Zuckermenge (Rohrzucker + Maltose) enthielten, aber wechselnde Mengen von Würze. Dadurch wurde ungleiches Wachstum der Hefeaussaat erreicht.

Es fanden sich folgende 4 Werte:

g Kalorien	5605	4989	3939	2508
ab für absorb. CO_2	38	38	38	38
	5567	4950	3901	2470
dazu für Wasserverdunstung	295	232	188	121
	5962	5383	4089	2591
Zucker war vorhanden	54,2	53,9	54,4	54,7
Ausgufsverlust	0,4	0,4	0,4	0,4
	53,8	53,5	54,0	54,3
Rest	13,0	18,9	25,9	36,0
Verbraucht	40,8	34,6	28,1	18,3

Also Gärungswärme:

I. 143,7
II. 149,8
III. 145,5
IV. 142,1.

Die Stickstoffernten waren natürlich sehr ungleich, bei I 76 mg, bei II 40 mg, III 23 mg und IV 13 mg. Das Mittel wäre sonach für die Gärungswärme 145,3, eine Zahl, die von der vorigen nicht erheblich abweicht.

Zum Schlusse will ich übersichtlich noch die Ergebnisse aller Beobachtungen tabellarisch zusammenstellen:

Tabelle VI.

Nr.	Versuchsbedingungen	Gärungswärme pr. 1 g Zucker	Differenz vom Mittel
1	bei 38°, 10% Rohrzucker	151,5	+ 1,33 %
2	bei 28°, 10% Rohrzucker	149,3	— 0,01 »
3	bei 22°, 10% Rohrzucker	148,2	— 0,85 »
4	bei 28—30°, 10% Rohrzucker	149,7	+ 0,1 »
5	50 Zucker zu 250 ccm + 50 Hefe	(140,7)	—
6	25 Zucker zu 250 + 25 ccm Hefe	147,9	— 1,07 »
7	12,5 Zucker zu 250 + 12,5 Hefe	152,9	+ 2,27 »
8	6,25 Zucker zu 250 + 6,25 Hefe	147,9	— 1,08 »
9	Reinkultur Pombe, 10% Rohrzucker	153,2	+ 2,47 »
10	Reinkultur Nr. 696, 10% Rohrzucker	150,8	+ 0,89 »
11	Wachsende Hefe, Maltose, Bierwürze	148,5	— 0,67 »
12	Wachsende Hefe in Bierwürze u. Rohrzucker	145,3	— 2,81 »
	Gesamtmittel ausschliefslich Nr. 5	149,5	—

Aus dieser Tabelle sehen wir, dafs die Ergebnisse, die unter den ungleichartigsten Umständen gewonnen sind[1]), recht wenig voneinander verschieden sind. Das Maximum weicht um + 2,47% vom Mittel ab, das Minimum um — 2,81%. Dabei mufs man aber bedenken, dafs es sich nicht um die Feststellung rein physikalischer Veränderungen, sondern um die Wirkung biologischer Prozesse handelt, welche natürlich variabler sind.

Es ist gewifs von vornherein nicht ein Einflufs der verschiedenen Bedingungen auf das Resultat zu bestreiten.

Die Menge der Nebenprodukte sollen wechseln je nach der Schnelligkeit der Gärung. Verläuft die Gärung langsam, so kommt mehr Bernsteinsäure[2]).

Ferner kann ein Unterschied durch die Eigenart der Hefe begründet sein; Nr. 9 und 10 ergeben unter gleichen Verhältnissen Verschiedenheiten, wenn auch nicht bedeutende; 1, 2, 3

1) Ich habe den einen Wert für Maltose nicht ausgeschieden.

2) R. Green, a. a. O., S. 318.

lassen einen Einflufs der Temperatur auf die Wärmebildung kaum verkennen.

Alles in allem genommen wird es notwendig sein, auf die biologischen Vorgänge bei dem Experiment auch noch einzugehen.

Wir können also die Gärungswärme des Rohrzuckers pro 1 g = 149,5 g Kal. = **0,1495** kg Kal. setzen, für CO_2 als Gas und für CO_2 in Lösung (+ 0,49 × 127) = 0,0622

0,1495

0,2117 kg Kal.

Für 1 Molekül Rohrzucker (= 342) haben wir:

bei CO_2 als Gas: **51,13** kg Kal.
bei CO_2 absorbiert: **72,40** kg Kal.

Um die Zahlen leicht vergleichbar zu machen, müfste man sie auf Traubenzucker umrechnen. Man nimmt an, dafs Rohrzucker bei der Gärung mehr Wärme liefern mufs als der Traubenzucker, bzw. dafs der Rohrzucker wegen Inversion in Invertzucker mehr Wärme bildet. Wenn 1 Molekül Rohrzucker invertiert war, so werden nach Stohmann 3,1 kg Kal. erzeugt.

Ich habe versucht, mich durch das direkte Experiment betreffs der Gröfse dieser Wärmebildung zu unterrichten.

Es gibt mancherlei Anhaltspunkte, welche anscheinend schon bisher für die Wärmebildung der Invertase gesprochen haben. So habe ich häufig beobachtet, dafs wenn man Hefe mit Toluol versetzt, auf Rohr- oder Traubenzucker wirken läfst, die Wirkungen ganz ungleich werden. Man sollte annehmen, dafs unter solchen Umständen die gleiche Wärme auf fermentativem Wege entstehen werde. Alle die Experimente fallen immer in dem Sinne aus, dafs die Wärmeentwicklung der Rohrzuckerlösung eine viel beträchtlichere ist als bei der Traubenzuckerlösung, während für die lebenden Hefezellen der Traubenzucker und der Rohrzucker fast gleich schnell oder richtiger gesagt, der Traubenzucker noch schneller als der Rohrzucker vergoren wird. Es ist bekannt, dafs man die Invertase aus Hefe in der Weise herstellen

kann, dafs man die käufliche Hefe mit Wasser sorgfältig auswäscht und auspreſst und diese gewaschene Hefe dann mit dem doppelten Volumen Wassers 2 Stunden stehen läſst. Wenn man hierauf das Wasser sorgfältig von der Hefe trennt und filtriert und mit dem gleichen Volumen Alkohols fällt, bekommt man einen weiſsen Niederschlag, der wahrscheinlich mit einer Reihe von anderen Substanzen auch die Invertase mitgerissen hat. Wird dieser weiſse Niederschlag im Wasser aufgenommen, so erhält man eine gelblich bräunliche Mischung, die etwa wie aufgeschwemmte Hefe aussieht. Diese Substanzen haben die Eigenschaften, bei höherer Temperatur den Rohrzucker rasch zu invertieren. Nachdem ich mir die Invertase in der geschilderten Weise dargestellt hatte, habe ich dieselbe auf Rohrzuckerlösung wirken lassen und festgestellt, ob dabei wirklich eine Wärmeerzeugung stattfindet oder nicht.

Die Wärmebildung war nicht bedeutend, aber in allen Experimenten nachzuweisen. Beobachtet wurde $4^1/_2$—7 Stunden im Maximum, dann die kalorimetrische Messung abgeschlossen und sofort die Bestimmung des Invertzuckers ausgeführt. Gemessen wurde:

a) für selbst dargestellte Invertase:

gefunden	2,16 g	Invertzucker	Wärme	18,8 g	Kal.
	17,28 »	»	»	159,2 »	»
	16,80 »	»	»	179,9 »	»

b) bei 0,5 g Invert. Merk	25,0 g	Invertzucker	Wärme	228,2 g	Kal.
» 1,0 » »	» 42,0 »	»	»	373,4 »	»

Auf 1 g Invertzucker	8,71 g	Kal.	9,15 g Kal.
	9,21 »	»	
	10,70 »	»	
	8,13 »	»	
	8,99 »	»	

Da 105,3 Teile Invertzucker = 100 Rohrzucker sind, so ist *die Inversionswärme des Rohrzuckers* pro g = 9,63 g Kal. und pro Molekül = **3,293** *Kal.*

Die Inversionswärme ist also eine ganz unbedeutende Gröfse; sie wird aber für unsere späteren Betrachtungen in den demnächst zu veröffentlichenden Arbeiten eine grofse Rolle spielen. Wenn man bedenkt, dafs der Rohrzucker 3960 g Kal. bei der Verbrennung liefert, so macht die Inversionswärme hiervon nur 0,24% aus, und man begreift, dafs die Genauigkeit der kalorimetrischen Untersuchungen einen hohen Grad erreichen, d. h. die analytischen Zahlen durch eine grofse Anzahl von Einzeluntersuchungen gestützt sein müssen, ehe man aus ihnen die Inversionswärme durch Rechnung ableiten kann.

Als Inversionswärme berechnet Stohmann + 3,1 pro Molekül, was sich mit meiner direkten Messung auffallend gut decken würde.

Kehren wir zu unserer Aufgabe zurück.

1 Molekül Rohrzucker bringt also bei der Gärung an Wärme um 3,1 kg Kal., d. h. um die Inversionswärme zu viel. Ziehen wir dies von den obigen Zahlen ab, so haben wir die Wärme pro 2 Moleküle Dextrose

$$\left(= \frac{48{,}03}{2} \text{ bzw. } \frac{69{,}3}{2}\right) =$$

1 Mol. Dextrose, CO_2 Gas = **24,01** kg Kal.,
CO_2 flüssig **34,65** » »

Läfst man die Inversion bei der Berechnung ganz beiseite, so werden die Ergebnisse für Traubenzucker und für CO_2 (gasförmig) folgende werden:

Dubrunfaut	21,8	kg	Kal.,
Brown . .	21,4	»	»
Bouffard .	23,7	»	»
Rubner . .	25,6	»	»

Die obigen Zahlen differieren also nicht unbedeutend, aber bei weitem nicht in dem Grade als die Resultate der bisherigen Annahme über die Gärungswärme auf Grund der thermochemischen Messungen.

Wenn wir die Verbrennungswärme des Rohrzuckers zu 3960 g Kal. annehmen, so trifft auf die Gärungswärme inkl. Invertierung nur 3,78% und nach Abrechnung der Invertierung 3,54% bei

der für CO_2 als Gas berechneten und für CO_2 absorbiert 5,35% bzw. 5,12%.

Die Inkongruenzen zwischen direkter Beobachtung und Berechnung erklären sich offenbar schon daraus, dafs die angenommene Gärungsgleichung keineswegs den Verhältnissen allgemein entspricht.

Die Pasteursche Formel der Alkoholgärungsgleichung setzt sich, wie bekannt, aus folgenden Posten für 100 g Rohrzuckerzerlegung zusammen:[1])

Alkohol	51,10,
Kohlensäure	49,20,
Glyzerin	3,40,
Bernsteinsäure . . .	0,65,
Zellulose, Fettstoffe etc.	1,30.

Sie gilt also streng genommen unter der Annahme, dafs ein Teil der Stoffe des Zuckers in die Verbindung mit der Hefe übergeht. Diese Annahme trifft bei dem Hefewachstum zu, nicht bei meinen Experimenten, bei welchen eine Abnahme der Hefemsase allemal eintrat.

Ferner wird die Berechnung auf reinen Äthylalkohol durchgeführt, obschon mehr oder minder erhebliche Beimengungen anderer Substanzen gegeben sein können, und endlich erscheint mir wegen der Unsicherheit der alten Methoden der Glyzerin- und Bernsteinsäurebestimmung die Formel überhaupt revisionsbedürftig.

Den Haupteinflufs auf die Zahlen der theoretischen Ableitung der Gärungswärme hat die Verbrennungswärme für den Alkohol, wenn wir die Angaben für den Zucker als gesichert ansehen wollen.

VI.

Die Feststellung der Gärungswärme kann nicht erörtert werden, ohne auf die Wachstumsverhältnisse der Hefezellen selbst einzugehen.

Wie verhält sich denn die Hefe selbst bei den Vorgängen der Gärung? Unter diesem Gesichtspunkt die Frage

1) Ducleaux, T. III, p. 263.

behandelnd, habe ich die Relationen zwischen Zucker und Hefe variiert und weiter auch das Hefewachstum in den Beobachtungskreis hereingezogen.

Bezüglich der wachsenden Hefe habe ich schon erwähnt: sie hat reichlich Gelegenheit, auch ohne den gärungsfähigen Zucker sich aufzubauen und zu vermehren. Bezüglich der Versuche mit reiner Zuckerlösung, bei welchen kein N-haltiges Baumaterial vorhanden ist, liegt die Sache aber anders. Ich habe in allen Fällen die Hefen, welche im Versuch zur Anwendung kamen, genauer untersuchen lassen.

Schon von Pasteur war auf den Umstand hingewiesen worden, dafs das Hefetrockengewicht in Zuckerlösungen geringer wird, wenn anscheinend ein bestimmtes Verhältnis zwischen Zucker und Hefe innegehalten wird, und die letztere etwa 15 bis 20% des ersteren ausmacht; wenn aber weit weniger Hefe zur Anwendung kommt, so findet sich bei Pasteur eine Zunahme des Hefegewichts nach der Gärung.[1])

Für thermische Versuche bleibt der letztere Fall meist auszuschliefsen, weil sonst die Gärungen allzulange hinziehen.

Ich habe auf die Bestimmung der Trockensubstanz weniger Wert gelegt als auf die Bestimmung des in der Hefe gebundenen Stickstoffs. Dieser war abgesunken[2]) von 100 N vor dem Versuch auf 83,1% in 50 Stunden (Kultur Pombe), 85 in 60 Stunden, (Nr. 696), 80,3% in 54 Stunden usw. (Nr. 696).

Gröfser war der Verlust bei den käuflichen Hefen und zwar in Abhängigkeit mit der Temperatur; statt 100 Teile N wurden gefunden nach 48 Stunden:

bei 23°	28°	39°
68,1	66,0	50,0.

Auch bei in Bierwürze gewachsener Hefe geht es nicht anders, wenn sie in einem an Zucker reichen Nährboden (Würze und

1) Schützenberger, S. 118.

2) Unter den Angaben von Schützenberger finde ich S. 73 nur eine analog verwertbare Angabe. 0,215 g N in Hefe hatte sich nach der Gärung auf 0,148 g, d. h. auf 68,8% vermindert.

Zucker) kultiviert wird und sie erst einmal das Maximum des Wachstums überschritten hat.

Ich möchte hier gleich bemerken, dafs diese Verluste an stickstoffhaltigem Material darin begründet sind, dafs offenbar ein Teil des lebenden Protoplasmas zugrunde geht. Wir werden später auf diese Verhältnisse noch näher eingehen. Ich kann aber jetzt schon bemerken, dafs die Zahlen der Hefezellen sich während eines Experiments mit einer Zuckerlösung nicht ändern, dagegen aber die Menge des Stickstoffs. Es wird also von den Hefebestandteilen ein Teil nach aufsen hin abgegeben. Diese Zerstörung eines Teils der Substanzen der Hefezellen darf aber nicht etwa als eine einfache Verbrennung angesehen werden, denn zu einer solchen sind die Verhältnisse einer Gärung gar nicht angetan. Wir haben es ja bei der Gärung mit der reinen anaëroben Zerlegung zu tun und freier Sauerstoff kann in der Flüssigkeit nicht vorhanden sein.

Die Menge an Wärme, welche sonach bei dem Zugrundegehen der Hefezellen auftreten kann, wird gering sein, und sie wird sich vielleicht ähnlich verhalten wie die Wärme bei der Alkoholgärung zur Gesamtverbrennungswärme des Zuckers.

Die Menge des Verlustes an Stickstoff aus der Hefezelle ist nicht gering. Hat man doch schon in älteren Versuchen gesehen, dafs unter Umständen nach der Gärung die Hefezellen fast nur die Hälfte ihres ursprünglichen Stickstoffgehalts besitzen. Auch in meinen Experimenten ist namentlich bei hohen Temperaturen eine solche Verminderung des Stickstoffgehalts nachzuweisen gewesen. Da in den vorliegenden Fällen zumeist 5 g Hefe angewandt worden sind mit etwa 100 mg Stickstoff, so kann durch die Umwandlung von 50 mg Stickstoff aus dem Protoplasma der Hefezellen wahrscheinlich eine gewisse Menge von Wärme entstanden sein, und wir werden also veranlafst werden, über die Möglichkeit einer Wärmeentwicklung bei der Spaltung der Hefezellen etwas Näheres zu sagen.

Der Verlust der Hefezellen an Stickstoff ist bis jetzt als sog. Selbstgärung der Hefe aufgefafst worden. Man weifs durch Versuche, dafs die Hefe, auch wenn der Zucker aus der Zucker-

lösung verschwunden ist, noch fortfährt, Kohlensäure und Alkohol zu bilden, und man hat früher gesagt, dafs diese Erzeugung der Gärprodukte auf die Zerlegung der Leibessubstanz der Hefe zurückzuführen ist. Namentlich von Schützenberger ist bewiesen worden, dafs bei dieser Selbstgärung neben der Kohlensäure und dem Alkohol eine Reihe von Spaltungsprodukten stickstoffhaltiger Natur auftreten, so dafs wir also es sowohl mit der Zerlegung von Eiweifsstoffen wie auch mit der Zerlegung von Kohlehydraten zu tun haben. Es ist wohl keinem Zweifel unterworfen, dafs man aber diese beiden Prozesse nicht unmittelbar vereinigt denken darf, denn die sog. Selbstgärung der Hefe unter Bildung von Kohlensäure und Alkohol ist unzweifelhaft ein Lebensprozefs oder mufs wenigstens erklärt werden aus der Wirkung des unverletzten Enzyms, die Lieferung der von Schützenberger näher charakterisierten stickstoffhaltigen Produkte dagegen kann ebensogut erklärt werden aus dem völligen Zusammenbruche des Eiweifses der Hefezellen. Meines Erachtens müfsten diese beiden Prozesse auseinander gehalten werden. Ich halte es aber nicht für überflüssig, dieser Frage der Selbstgärung gleich etwas näher zu treten.

Der einfachste Versuch, betreffend die Selbstgärung, besteht darin, dafs man Hefe mit Wasser im Brutraum stehen läfst. Die Veränderungen, die sich dabei ergeben, sind verschiedener Natur; nimmt man sehr viel Hefe und wenig Wasser, so verläuft die Selbstgärung anfänglich ohne besondere Veränderung. Nimmt man aber wenig Hefe und viel Wasser, so bemerkt man, dafs das Wasser in kurzer Zeit trübe wird, und dafs eine immense Menge von Bakterien entsteht und das Wasser in die stinkendste Zersetzung gerät. Die Selbstgärung ist ganz offensichtig in dem letzten Fall mit dieser Bezeichnung nicht zu belegen, nicht eine Selbstgärung ist vorhanden oder nicht diese allein, sondern es findet durch die in der käuflichen Hefe ja immer nachzuweisenden Bakterien eine echte stinkende Fäulnis statt. Aber die Art dieser Fäulnis, ihr Verlauf und ihre Wirkung auf die Hefezellen selbst, ist interessant und eigenartig.

Die Versuche, welche Schützenberger im Jahre 1874 über die Selbstgärung veröffentlicht hat, zeigten die reichliche Vermehrung der durch heifses Wasser aus Hefezellen ausziehbaren Produkte durch ersteren Prozefs und die gleichzeitige geringe Kohlensäureausscheidung bezog er auf alkoholische Gärung von Zucker. Unter den N-haltigen Produkten sind Leucin, Tyrosin, Carnin, Xanthin, Sarcin und Guanin zu nennen.

Schützenberger meint, dafs dabei die Fäulnis keine Rolle gespielt habe. Ich kann aber nur sagen, dafs man die Fäulnis wohl nie, wenn nicht besondere Kautelen innegehalten werden, vermissen wird. Ich bin aus meinen eigenen Erfahrungen durchaus der gleichen Anschauung, die vor kurzem Salkowski über diesen Teil der Schützenbergerschen Angaben ausgesprochen hat.[1])

Bezüglich der Experimente Schützenbergers[2]), welche unter Zusatz von kreosothaltigem Wasser gemacht sind, kann man nur das Eine sagen, dafs auf sie der von ihm selbst u. a. gebrauchte Ausdruck, die Hefe verfalle der Inanition, der Nahrungserschöpfung, nicht dem Wesen des Vorgangs entsprechend ist. Denn war der Kreosotzusatz genügend, so konnte zwar von keiner Fäulnis, aber auch von keinem Lebensprozefs mehr die Rede sein.

Zwischen der Selbstgärung in diesen Fällen und den Veränderungen, welche bei Zuckerzusatz erfolgen, darf man aber keine so nahe Parallele ziehen. Man hat bisher einen prinzipiellen Unterschied nicht beachtet.

Grundverschieden von diesem Ablauf der »Selbstgärung« der Hefe in Wasser ist die Gärung unter Anwesenheit von Zucker; man wird selbst dann, wenn man eine durch Selbstgärung hochgradig »faule« Hefe anwendet, sehen, dafs die Fäulnisprozesse sofort unterbrochen werden. In dem Gärgemisch kommen Bakterien nicht auf.

Schon aus diesen Gründen kann man Selbstgärung und die Veränderung bei der Gärung des Zuckers und die Umwandlung eines Teiles des Zellinhalts in lösliche N-haltige Produkte nicht in eine Parallele stellen.

1) E. Salkowski, Über Autolyse, S. 151. »Die deutsche Klinik«, 1900.
2) a. a. O., S. 108 ff.

Der Ablauf der Prozesse, die man kurzweg als Selbstgärung bezeichnet hat, sind weder morphologisch noch biologisch mit der Hungererscheinung an anderen Zellen identisch.

Bei 38° haben nach meinen Untersuchungen bei Zuckergärung und täglicher Erneuerung der Zuckerlösung nach 6 Tagen die Zahlen der Hefezellen gar nicht abgenommen; in 20 g frischer Hefe fanden sich anfangs 176200 Mill.

Nachdem an 6 aufeinander folgenden Tagen die Hefe abzentrifugiert und frische Zuckerlösung (20%) aufgefüllt war, fanden sich 173000 Mill.

Die auf Würzeagar züchtbaren waren allerdings sehr in Abnahme begriffen, und es fanden sich anfangs 133320 Mill. pro 20 g Aussaat, zum Schlufs 4975 Mill.

Vom Stickstoff war dabei 84,8% in Lösung gegangen, d. h. täglich 14%, von dem Verbrennlichen 46,4%, d. h. täglich 7,7%.

Die Bilanz gibt eine kleine Übersicht:

	N	Kalorien
Anfang	1,720 g	93,98
Schlufs	0,262 »	50,33
Verlust	1,458 g	43,65 kg Kal.

Daraus folgt, dafs hier im wesentlichen Eiweifs in die löslichen Produkte übergegangen ist, das Verhältnis der N : Kal. bei dem Verlust entspricht etwa den Eiweifsstoffen.

Bei der Selbstgärung mit Wasser waren in 3 Tagen statt 176200 Mill. Hefezellen überhaupt nur noch 46500 Mill. intakte zu finden und nur noch 375 Mill. kultivierbare.

Die gröfste Masse der Hefetrümmer befand sich in der trüben, durch Zentrifugieren nicht zu klärenden Flüssigkeit.

Während der Gärung findet also in den Zellen mit Rücksicht auf das Eiweifs wirklich ein Prozefs statt, den man vielleicht mit der Eiweifszersetzung bei Eiweifshunger in einige Parallele stellen kann. Was man aber in Hefe, die einfach in Wasser aufgeschwemmt wird, an Zerlegungsvorgängen sieht, pafst in diesen Rahmen »der hungernden Zellen« nicht hinein.

Der Zusammenbruch des Hefeeiweifses wie der Zelle als Formelement kann durch die Gärung gehemmt werden; die Kohlehydraternährung vermag die Zelle, wenn nicht ganz, doch für längere Zeit leistungsfähig zu erhalten.

Ein gewisser Eiweifsverlust findet sich in dem Zellengemenge, ob dieser sich auf alle Zellen gleichmäfsig oder nur auf bestimmte Lebenszustände der Hefezellen erstreckt, ist nicht mit Bestimmtheit zu sagen.

Wie die Hefezelle schon nach den äufseren Erscheinungen in Zuckerlösungen gegenüber der Fäulnis leicht siegt, so verändert sie auch chemisch alsbald ihren Nährboden, indem sie ihn mit ihren Fermenten und Zuckerspaltstücken überschwemmt und zugleich das zerfallene Eiweifs wieder aufbaut.

Es mag hier folgende Versuchsreihe erwähnt sein.

Von reiner Hefe nahm ich vier gleich grofse Proben, brachte zwei davon gut verpackt zwischen Eis für 3 Tage, zwei andere wurden mit Wasser angerührt und blieben 3 Tage bei 28°. Die letzteren Proben entwickelten einen abscheulichen Gestank.

Alle vier Proben wurden nunmehr auf gleichen Zuckergehalt gebracht und im Kalorimeter beobachtet. Das Resultat, welches sich ergab, war ein ganz erstaunliches. Ich führe die Zahlen an:

Tabelle VII.

Gramm Kal. pro 2 Stunden:

Zeit	Faule Hefe, nach Selbstgärung	Normale Hefe
2	631	697
4	260	259
6	260	276
8	253	249
10	250	242
12	221	216
14	212	205
16	211	207
Summe	2298	2351

Die gefaulte Hefe leistete genau dasselbe wie die normale Hefe, und die erstere hat fast die ganze Mafse der N-Spaltungsprodukte wieder zu Eiweifs aufgebaut

Es fand sich:

	Gefaulte Hefe nach der Gärung	Normalhefe nach der Gärung
N in Hefe	0,0784	0,0872
in der Lösung	0,0280	0,0228
	0,1074	0,1100
N in Lösung	26,4 %	20,4 %.

Von der »Selbstgärung« haben wir aber noch eine andere Seite, die der Unwandlung von zuckerhaltigen Nährmaterials zu betrachten.

Die gewöhnliche Gärung geht nach den Angaben der Autoren unmerklich in die Kohlensäureentwicklung durch Selbstgärung über. Man hat bei Beobachtungen dieser Selbstgärung gefunden, dafs tatsächlich neben Kohlensäure auch Alkohol gebildet wird, somit könnte man für meine Versuche auch schliefsen, dafs die Selbstgärung die Menge der Wärme vermehren kann, welche aus dem Zucker durch die Gärung entsteht.

Eingehendere Selbstgärungsversuche sind von Jodlbauer ausgeführt worden. Er bemerkt, dafs je älter die Hefe wird, um so weniger Kohlensäure sie aus Zucker liefert. Z. B. statt 49,1 % Kohlensäure geringere Werte bis herunter zu 46,98. Die Hefe hatte bei diesen Versuchen vorher auf Eis gelegen, der Gärungsprozefs wird also allmählich langsamer. Er hat auch weiter festgestellt, dafs die Hefe bei diesem Lagern an Trockensubstanz verliert, dafs sie aber gleichzeitig relativ an Stickstoff zunimmt, woraus man auf einen Verlust an stickstofffreien Stoffen bei der Selbstgärung schliefsen kann. Er hat solche Versuche über die Selbstgärung auch in einem Eudiometer ausgeführt und die von Stunde zu Stunde auftretende Kohlensäure gemessen. Nach 7 Tagen war diese Kohlensäureentwicklung noch nicht beendigt.

Wenn man solche Hefe also genügend lange beobachtet, so kann man eine sehr erhebliche Menge von Kohlensäure durch diese Nachgärung gewinnen. Einige Angaben über die absolute Menge der Kohlensäure bei der Selbstgärung finden sich auch bei Jodlbauer.

Die Selbstgärung verläuft anfänglich intensiv, später recht schwach, so dafs man pro 1 g Hefe und eine Stunde Zeit natürlich ganz ungleiche Werte der Kohlensäurebildung, die nach meiner Rechnung zwischen 8—73 mg schwanken, aus den Jodlbauerschen Versuchen berechnen kann.

Je gröfser der Hefeüberschufs, um so reichlicher ist die Menge des zerlegten Materials; durch die Nachgärung können die Resultate eines Gärungsversuchs, insoweit die Kohlensäure in Betracht kommt, wesentlich beeinflufst werden.

Der Einflufs ist so bedeutend, dafs ohne seine Berücksichtigung eine Aufstellung einer richtigen Gärungsformel überhaupt unmöglich würde.

Unter Selbstgärung der Hefe fafst man also verschiedene Prozesse zusammen, die in ihrem ganzen Ablaufe nicht direkt zusammengehören und die innerlich ungleichwertig sind.

Die N-Metamorphose ist in den älteren Experimenten wohl wesentlich ein Fäulnisprozefs od. dgl. gewesen. Insofern durch irgendwelche Mittel die Fäulnis behoben würde, haben wir es mit Prozessen zu tun, die man autolytische zu nennen berechtigt ist. Die Abnahme an N findet auch statt, wenn man die Hefe unter Zusatz von Toluol z. B. beläfst.

Als Mittel, die Tätigkeit des Protoplasmas zu hemmen, ohne die Fermente in gröfserem Mafsstab zu beeinflussen, hat zuerst E. Salkowski Chloroformwasser angegeben. Späterhin hat man auf Vorschlag von E. Fischer das Toluol angewendet, welches namentlich, wie die besonderen Untersuchungen von E. Buchner gezeigt haben, gerade sehr schonend auf die Enzyme, z. B. die Zymase, einwirkt, während Chloroformwasser entschieden kräftiger in dieser Hinsicht wirkt.[1])

Mir scheint aber aus Versuchen, die ich angestellt habe, hervorzugehen, dafs der Prozefs des Eiweifsabbaues, solange dieselbe Hefemenge immer wieder in frischen Zucker ausgesät wird und tatsächlich gärt, weit geringer ist als der Eiweifszerfall, wenn man die Hefe in Zucker unter Anwesenheit von Toluol tötet und nur die Zymase in Wirksamkeit treten läfst.

1) E. Buchner, a. a. O. — E. Salkowski, Autolyse, S. 153.

Von 0,0930 g N-Hefeaussaat in 20% Rohrzucker bei 38° waren mir nach 6maliger Wiederholung dieser Aussaat in frische Zuckerlösung nach vorherigem Zentrifugieren noch 0,039 Hefe-N übriggeblieben; die Zellenzahl war dieselbe. Bei entsprechenden Versuchen mit toter Hefe (Toluolzusatz) fand sich nach 4 Tagen, also in der halben Zeit nur 0,009 und 0,010 g N!

Man hat zwei Möglichkeiten der Erklärung dieser Resultate: einmal kann der Zerfall der N-haltigen Substanz der Hefezelle bei 38° stets der gleiche sein, aber die Hefe regeneriert die N-Spaltungsprodukte zu Eiweifs, wenigstens teilweise; oder es liegt dann, wenn die Hefe gärt, weniger Grund zum Zusammenbruch des Protoplasmas vor.

Letztere Ansicht scheint mir die wahrscheinlichere; doch darf man annehmen, dafs der N-Zerfall mit der gröfseren Lebhaftigkeit des Stoff- (Zucker-)umsatzes zunimmt (s. o.).

Es wird also stets bei der Gärung in reinem Zucker etwas eiweifshaltiges Material gespalten, wie wir sehen; wir haben leider zurzeit kein Mittel, genau festzustellen, dafs hierbei und in welchem Grade Wärme frei wird.

Die thermochemischen Vorgänge bei der Spaltung des Hefeprotoplasmas kennen wir leider zurzeit nicht, dafs dabei Hydratationen eine Rolle spielen, mag zuzugeben sein, auch die Wahrscheinlichkeit der positiven Wärmetönungen, wobei freilich die Lösungswärme der Produkte in positivem wie negativem Sinne in Rechnung kommen kann.

Ich meine nicht, dafs die mit dem N-Zerfall einhergehende Spaltwärme in diesen Fällen, wo 25 g Zucker und mehr gespalten wurde, erheblich auf das Endergebnis einwirken konnte; es hätte sich doch in meinen Versuchen immerhin ein Resultat zeigen können. Aber es gelingt vielleicht auf anderem Wege, hier Auskunft zu bringen.

Nimmt man den weiteren Prozefs der Kohlehydratzerlegung, so handelt es sich dabei offenbar um die Aufzehrung aufgespeicherten Glykogens der Hefezelle. Dieser Prozefs kann ebensowohl als echter Lebensprozefs der Hefezelle verlaufen als unter den Bedingungen echter Autolyse, da ja das

Alkoholferment durch Zusätze, welche die Fäulnis leicht ausschliefsen, wie Toluol, so gut wie gar nicht geschädigt wird, beobachtet werden. Errera und Lamant haben zuerst die Beobachtung gemacht, dafs man Hefe nur ein paar Stunden in ein zuckerhaltiges Nährmaterial zu legen braucht, um Glykogen zu erhalten. Die Zellen sind reich gefüllt mit letzteren, so dafs bis 31% der Trockensubstanz an Glykogen vorhanden sein können.[1])

Fett kommt allerdings auch in der Hefezelle vor bis 5,3%[2]), in ganz alten Hefeproben sollen bis 52% beobachtet worden sein. Eine rasche Umbildung von Kohlehydraten in Fett dürfte kaum anzunehmen sein, woraus folgt, dafs diese Umsetzung für kurzdauernde Versuche kaum in Betracht kommen kann.

Die Glykogenbestimmung in den Hefezellen ist noch eine recht umständliche; da ich aber über den Umfang solcher Einlagerung von Glykogen unter den Bedingungen meiner Experimente einen Überblick haben wollte, habe ich folgenden Weg eingeschlagen:

Gewaschene Doppelhefe wurde ½, 1, 2 Stunden in 20proz. Zuckerlösung bei 37° gebracht.

Von der gleichen Hefe waren 3 Proben zur selben Zeit mit Wasser zur Selbstgärung bei 37° hingestellt worden, wurden nach 3 Tagen zentrifugiert und die abgesetzte Hefe ½, 1, 2 Stunden bei 37° mit 20proz. Rohrzucker belassen.

Nachdem die Hefen die entsprechende Zeit in Zuckerlösung geblieben, wurde abzentrifugiert, dann mit 9proz. Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert, bis sicher kein Zucker mehr anhaftete, die Kochsalzlösung sollte durch Anregung von Plasmolyse das gelöste Material auspressen, soweit als dies möglich war.

Die Proben wurden auf N und Verbrennungswärme untersucht. Wird Glykogen eingelagert, so mufs die Relation $\frac{\text{Kal.}}{\text{N}}$ sich ändern.

1) Ducleaux, T. III, p. 148 ff.

2) Ducleaux, a. a. O., S. 151.

3) Ducleaux, a. a. O., S. 153.

Das Ergebnis war:

Zeit des Aufenthalts in Rohrzucker	Hefe ohne Selbstgärung $\frac{\text{Kal.}}{\text{N}}$	Hefe nach Selbstgärung $\frac{\text{Kal.}}{\text{N}}$
1/2 Stunde	60,9	85,6
1 »	62,0	83,1
2 »	69,0	115,4.

Der Versuch ergibt ganz eklatante Resultate. Die Hefe, welche der Selbstvergärung nicht ausgesetzt war, ändert auch nach dem Liegen in Zuckerlösung ihren Quotienten $\frac{\text{Kal.}}{\text{N}}$ nur wenig, wennschon sicher in dem Sinne einer geringen Glykogenablagerung. Ganz anders die autolysierte Hefe. Verarmt an N, wie sie ist, bringt ihr der zweistündige Aufenthalt in Zucker einen erheblichen Zuwachs, welcher auf die Einlagerung von Glykogen bezogen werden kann.

Die Einlagerung von Glykogen könnte selbstverständlich einmal den Zucker mindern und so das Endresultat in dem Sinne beeinflussen, dafs die Zahlen der Gärungswärme zu klein werden mufsten; der Zucker wäre eben nicht nachweisbar — und trotzdem durch ihn nicht nur keine Wärme erzeugt, sondern bei der Anhydridbildung sogar noch Wärme gebunden worden. Es kann aber ebensogut der Fall eintreten, dafs die Hefe mit mehr oder minder reichem Glykogengehalt in den Versuch gebracht wird und mehr Wärme entsteht, als dem Zuckergehalt der Nährlösung entspricht. Man darf annehmen, dafs die Hefe den Glykogenvorrat erst in energischer Weise dann angreift, wenn sie überhaupt Mangel an Zucker empfindet.

»Wurde der Gärungsvorgang in dem Momente unterbrochen, wo die bereits gelieferte Kohlensäure dem Gewichte des verwendeten Zuckers entsprach oder etwas darüber hinausging, dann fand sich kein Zucker mehr in der Flüssigkeit. Daraus würde sich wieder schliefsen lassen, dafs die Hefe nicht eher auf ihre eigenen Bestandteile zu wirken anfängt, als bis aller Zucker verbraucht ist.«[1])

1) Schützenberger, S. 108.

Dies kann zweifellos kein allgemein gültiger Satz sein, sondern mag nur für jene Fälle Geltung haben, in welchen die Hefe gering an Menge, der Zucker reichlich ist. Denkt man sich die Hefe relativ zunehmend, so wird eine Grenze bestehen, von welcher ab die Hefe so überschüssig ist, dafs sie von Anfang an nur unzureichend ernährt wird und die Bedingungen einer Selbstgärung gegeben sind.[1])

Wie oben schon berührt, habe ich stets mit Hefemengen gearbeitet, die in Maximo das Zuckergewicht erreichten, zumeist mit $^1/_5$—$^1/_{10}$ Hefe des Zuckergewichts.

Ich habe in meinen Versuchen, von einigen beabsichtigten Ausnahmen abgesehen, die Experimente dann abgebrochen, wenn die Wärmeentwicklung unter 0,1° abgesunken war; dann ist immer noch etwas Zucker nachweisbar, also auch anzunehmen, dafs noch Vorräte von Glykogen vorhanden sind. Wenn man auch nicht von einer ganz erschöpften Hefe ausgeht, wird wenigstens der Fehler gröfserer Zuckeranlagerung wohl vermieden.

In dem schwankenden Bestande an Glykogen sehe ich einen der Fehler, welche im biologischen Experiment unvermeidlich sind, und bald Ausschläge über, bald unter den Mittelwert veranlassen. Wahrscheinlich beruht auch der höhere Wert der Gärungswärme bei 38° auf diesem energischen Verbrauch aller auch etwa angespeicherter Nahrungsstoffe, während bei 22° nicht alles davon aufgezehrt war, zumal das Experiment hier auch abgebrochen werden mufste, noch ehe die Ausgärung eine anscheinend vollkommene war. Der Glykogengehalt der Zellen ist wechselnd und kann die Resultate stören.

Das Glykogen kann in Betracht kommen zu Anfang der Versuchszeit, weil bei der Glykogenbildung Wärme gebunden wird und zu Ende des Versuchs, weil es dabei in Zucker übergeführt und zerlegt wird. Es kann von Anfang an die Zelle reich an Glykogen sein oder Mangel daran herrschen.

Grofse Hefemassen und stürmische Gärungen sind also am besten zu vermeiden.

---

1) Ähnliches hat Jodlbauer beobachtet, s. S. 348.

Die Selbstgärung, insoweit demnach das kohlehydrathaltige Material in Frage kommt, ist also jedenfalls durch unsere Kenntnis vom Wandel und der Entstehung des Glykogens genügend aufgeklärt worden.

Nach den soeben gemachten Ausführungen mufste es mich noch interessieren, mit Hilfe meiner Versuchsmethode die Prozesse der Selbstgärung näher zu verfolgen. Unter möglichster Anlehnung an die älteren Versuchsautoren habe ich eine Reihe von Experimenten angestellt, bei welchen auf 1 Teil Hefe etwa 5 Teile Wasser angewandt wurden. Weniger Wasser anzuwenden, war mir nicht möglich, weil sonst die Mischung des Materials im Kalorimeter eine zu schwierige wird. Wenn ich nun im Hinblick auf diese Beobachtungen meine eigenen Erfahrungen hier mitteile, so mufs ich zunächst bemerken, dafs bei der Wärmemessung solch ein langdauerndes Hinausziehen und Verklingen, wie man es bei den Experimenten unter Feststellung der Kohlensäureausscheidung bei der Selbstgärung gesehen hat, sich nicht findet oder wenigstens, wie ich gleich bemerken will, nur unter besonderen Umständen eintritt. Die Versuche verlaufen im allgemeinen so, dafs die Wärmebildung absinkt bis auf Null, und unter solchen Umständen wird man keinen Zucker oder nur Spuren von Zucker in der Flüssigkeit nachweisen können, damit ist der Versuch vom Standpunkt der Wärmemessung abgeschlossen. Nur unter eigentümlichen Umständen, nämlich dann, wenn man nicht mit Hefereinkulturen arbeitet, und wenn man von vornherein starke Verdünnungen des Nährbodens anwendet, findet man nach dem Absinken der Wärmeerzeugung mit Schlufs der Zuckerzerlegung ein Ansteigen der Wärmebildung, das unter Umständen sehr beträchtlich werden kann, wenn es auch die Gröfse der Wärmebildung bei Zuckerzerlegung nicht mehr erreicht. Es gibt sogar Fälle, in welchen ein völliges Zurückgehen der Gärungswärme auf Null nicht eintritt, sondern die Temperatur des Kalorimeters nur bis auf 0,1 oder 0,15° heruntergeht und dann eine verspätete Wärmebildung einsetzt. Wie ich gesehen habe, ist in allen diesen Fällen die Ursache darin zu sehen, dafs auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit eine weifs-

liche Haut sich entwickelt, welche in den meisten Fällen aus Oidium und Hefezellen, in lebhafter Wucherung begriffen, zusammengesetzt ist. Allem Anscheine nach handelt es sich hier nach dem allmählichen Entweichen der Kohlensäure aus der Flüssigkeit um ein Wiederaufleben der Hefezellen, welche an die Oberfläche der Flüssigkeit geraten und höchst wahrscheinlich an Stelle der alkoholischen Gärung eine direkte Verbrennung der letzten Reste des Zuckers der Nährlösung durchführen.

Zum Teil hat also diese mittels der Wärmemessungsmethode nachzuweisende Verlängerung der Wärmebildung nichts mit der Selbstgärung zu tun, sondern ist als eine besondere neue Gärung aufzufassen.

Um nun über die Verhältnisse der Selbstgärung auch vom Standpunkt der Wärmemessung ins klare zu kommen, habe ich eine Reihe von Versuchen ausgeführt, indem ich 50 g Hefe mit Wasser zu 250 ccm Flüssigkeit brachte. Dies ist, wie gesagt, notwendig, damit man eine genügende Mischung dieser Hefe im Kalorimeter erhält, in allen solchen Selbstgärungsversuchen setzt sich die Hefe alsbald in dem Kalorimetergefäfs wieder zu Boden und irgendeine Gärung ist durch den Augenschein nicht wahrzunehmen. Die Experimente haben gröfstenteils von einer irgendwie nennenswerten Wärmebildung nichts wahrnehmen lassen. Häufig habe ich 24 Stunden lang überhaupt keine Reaktionen bekommen. Erst dann begann auch hier unter der Wirkung auf der Oberfläche der Flüssigkeit sich bildenden Oidiums und anderer Hefezellen ein Ansteigen der Temperatur, welches übrigens sehr geringfügig gewesen ist. Ich habe selbst die Hefe auch im tüchtig ausgewaschenen Zustande untersucht und gleichfalls anfänglich lange Zeit keine Wärmebildung nachweisen können. Ebenso hat sich ausgewaschene und nachträglich mit 20proz. Zuckerlösung 2 Stunden gefütterte Hefe verhalten, die natürlich durch gründliches Waschen mit Wasser von dem anhaftenden Rohrzucker befreit worden war. Ich habe auch daran gedacht, es möchte durch irgendeinen Zufall ein kleiner Verlust von Wasser einer geringfügigen Wärmeproduktion entstehen, aber auch dann nicht, wenn man auf die Kalorimeter-

flüssigkeit Olivenöl gofs, blieb eine Wärmebildung in der ersten Zeit aus.

Ich habe auch solche angestellt mit den gleichen Flüssigkeiten, wie oben gesagt, unter Zusatz von Toluol. In diesen Fällen verlief die Temperatur in dem Sinne, dafs anfänglich und zwar in der 3. Stunde ein Maximum von 0,25° erreicht wurde. Von da an fiel die Temperatur ganz langsam bis auf Null.

Wenn ich eine Wärmewirkung als eine echte Wirkung der Selbstgärung bezeichnen darf, so würde in 28 Stunden die Menge der entwickelten Wärme etwa 204 g Kal. betragen haben. Die später noch entwickelte Wärme war so minimal, so dafs wir sie vernachlässigen können, mit Rücksicht auf die früher gegebene Zahl über die Gärungswärme würden 204,4 g Kal. einer Zuckerlösung von 1,3 g Rohrzucker entsprechen. Es würden demnach 100 g Hefe 2,6 g Zucker gespalten haben.

In zwei weiteren Beobachtungen fand ich eine sofort einsetzende »Selbstgärung«, welche aber in der 18. Stunde abgelaufen war, und im ganzen 142,7 g Kal. geliefert hatte.

In Versuchen, bei denen die Wärmeentwicklung sich etwas mehr hinausgezogen hatte, fand sich gleichfalls 142,7 g Kal. als Summe.

Diese Werte der vier letzten Experimente bleiben also noch unter dem ersterwähnten Versuchsergebnis zurück; begreiflich erscheint die Schwankung, zumal der Glykogengehalt z. B. ja ein sehr differenter gewesen sein mag.

Ein Vergleich mit anderen Resultaten ist leider nicht gut möglich, da bis jetzt ein Versuch einer solchen Wärmemessung nicht gemacht worden ist.

Schätzungsweise lassen sich aber ältere Experimente heranziehen, bei welchen die ausgeschiedene Kohlensäure gemessen wurde.

Bei Schützenberger[1]) sind ein paar Versuche von Pasteur hinsichtlich der Selbstgärung angeführt, die hier noch erwähnt sein mögen.

---

1) a. a. O., S. 107. 49 g CO_2 = 100 Teile Rohrzucker, 1 g Zucker = 0,1495 Kal. Gärungswärme.

50 g Hefe lieferten mit etwas Zucker in 2 Tagen:

300 ccm CO_2.

Aus Zucker stammt 110

also aus Hefe . . 190 ccm = 380 mg CO_2 = 775 mg

Zuckerzerlegung $\left(\frac{0,380}{0,49}\right)$ und $(0,775 \times 0,1495) = 0,1159$ g Kal. Gärungswärme, falls Alkoholgärung vorlag. 50 g Hefe in 2 Tagen 0,1159 Kal.; 50 g Hefe in 24 Stunden 0,058 Kal.

Die Temperatur, bei der diese Experimente ausgeführt wurden, dürfte wohl 25° betragen haben. Die Selbstgärung wird auch hier, kalorimetrisch betrachtet, nur einen kleinen Wärmezuwachs geben.

Zu ganz anderen Werten gelangt man nach Zahlenangaben, die Jodlbauer gemacht hat.

Ich habe sie oben aufgeführt. Die Zahlen lassen einen ganz ungleichen Verbrauch pro 1 g Hefe erkennen, was offenbar damit zusammenhängt, dafs die Selbstgärung nicht gleichmäfsig ablauft, sondern zuerst langsam, dann schneller, und die einzelnen Werte Jodlbauers die Mittel aus ungleichen Zeiten sind.

Nimmt man aus drei zwischen 50 und 132 Stunden währenden Versuchen das Mittel, so wurden pro 24 Stunden und 1 g 9,7 mg CO_2 gefunden = rund 20 mg Zuckerzersetzung und 3,18 g Kal. pro Tag = rund 159 g Kal. pro 50 g Hefe.

Diese Erscheinung der Wärmebildung bei der Selbstgärung wird manchmal ganz vermifst, man kann annehmen, dafs dann kein Material für den betreffenden Umsatz vorliegt.

Es wäre aber nicht unmöglich, dafs auch bisweilen die für die Fäulnis günstigen Bedingungen eine schädigende Wirkung auf jene Prozesse ausüben, bei welchen Glykogen und Zucker gespalten werden.

Nach der anfänglichen Wärmebildung, die sich manchmal bis in die 28 Stunden hinausgezogen hat, bleibt die erstere dauernd beendigt, wenn man mit Toluol sonstige biologische Vorgänge hemmt.

Nur wo Fäulnis einsetzen kann, sieht man später das Ansteigen einer Wärmebildung.

Da autolytische Vorgänge mit Bezug auf die Eiweifsumwandlung tagelang fortdauern und man trotzdem keine mefsbaren, aufserhalb der Fehlerquelle liegenden Wärmewerte erhält, so beantwortet sich die aufgeworfene Frage, ob Eiweifsspaltungsvorgänge die Gärungswärme erheblich beeinflussen können, von selbst, und zwar in negativem Sinne.

Auf anderem Wege als dem betretenen läfst sich über die energetischen Verhältnisse bei der Selbstgärung, soweit sie hier interessiert, nicht wohl etwas aussagen.

Man mag ja daran denken, durch Bestimmung der Verbrennungswärme einer Ausgangshefe und einer Hefe nach der Selbstgärung die Gröfse des Energieverlustes zu bestimmen. Ich habe aber vor einer solchen Methodik schon gewarnt, wie es scheint, ohne Erfolg. Ich möchte daher gerade an diesem Beispiel zeigen, wie die Resultate sich zur Methodik der direkten Wärmemessung stellen.

Es wurden 40 g Hefe mit 44,61 kg Kal. bei 38° 3 Tage mit Wasser gehalten, dann einfach getrocknet und wieder verbrannt und gefunden 42,95 kg Kal., also fehlten für 40 g Hefe 1,66 Kal. = 2,10 pro 50 g Hefe. Dieser Verlust erhöhte sich geradezu sprungweise bis zum 6. Tag.

Direkt gefunden wurden in 3 Tagen bzw. in den ersten 24 Stunden bis zu 204,4 g Kal. gegenüber diesem Verlust von 2,1 Kal., also über das Zehnfache nach der Methode der Verbrennung. Die Erklärung liegt in der Bildung flüchtiger Produkte, welche beim Trocknen zu Verlust gehen; unter den obwaltenden Umständen würde bei einer Glykogenzerlegung sowohl der Alkohol wie das Glyzerin bei einer Behandlung im Trockenschrank von 100° zu Verlust gehen.

Das Beispiel wird vorläufig genügen, um zu zeigen, wie man in der Wahl der Methodik die gröfste Vorsicht zu üben hat.

Man hätte nach den Schilderungen der Selbstgärung der Hefe erwarten müssen, eine erhebliche Wärmebildung zu finden.

Wenn wir auch heute noch über die energetischen Verhältnisse der Hefezellen sehr im Dunkeln uns befinden, und über die Grenzen »des normalen Kraftwechsels« und eines »Hunger-

kraftwechsels« bei diesen einzelligen Wesen Sicheres nicht aussagen können, so ist doch wieder soviel gewifs, dafs beide Gröfsen sich einigermafsen nahekommen müssen.

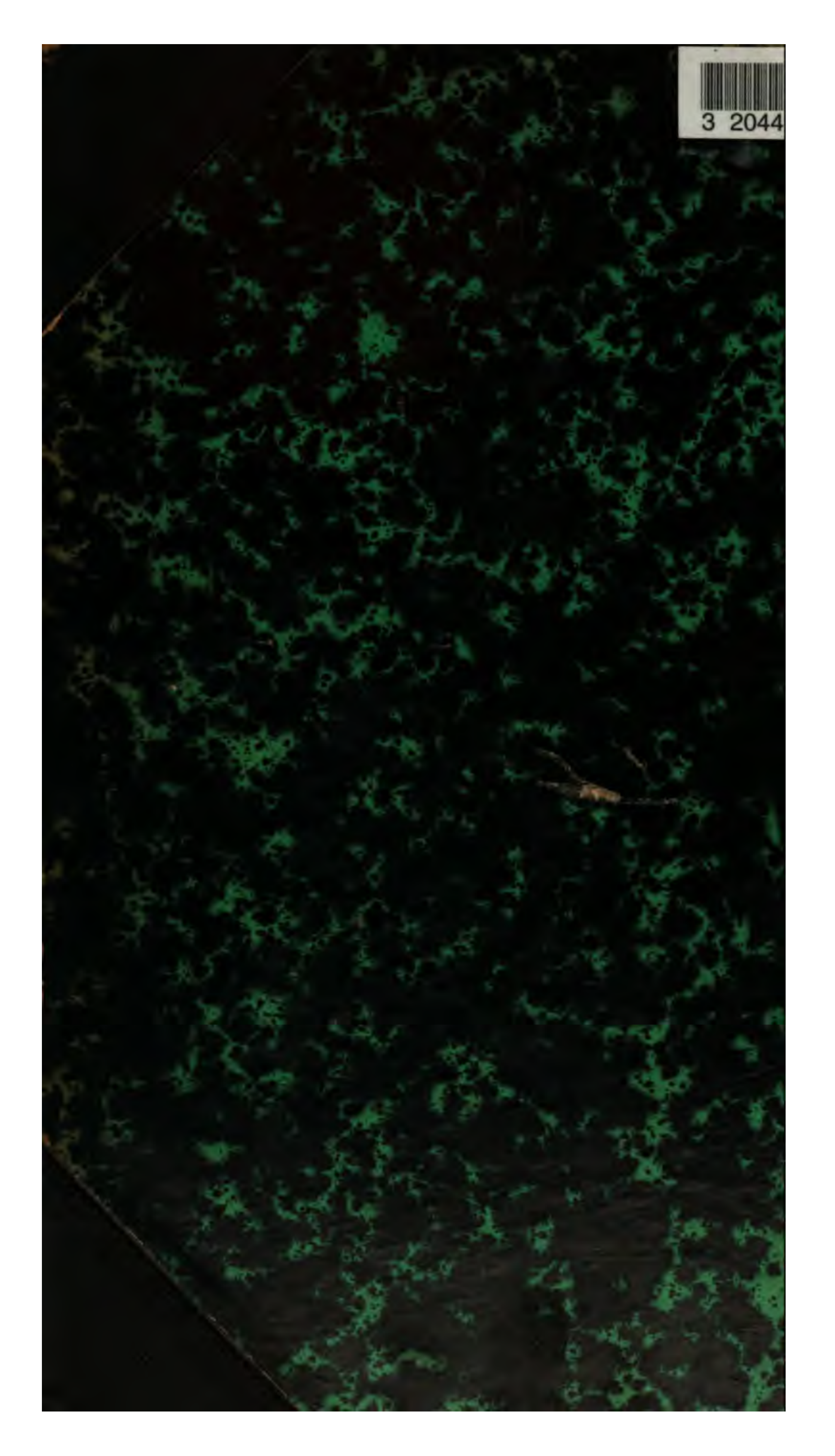
Meine Untersuchungen aber sind bezüglich der Selbstgärung ziemlich negativ ausgefallen.

Der Verbrauch von Nahrungsstoffen bei der Selbstgärung ist günstigenfalls ein sehr geringer; für 5 g verwendete Hefe kommen 20,4 g Kal. in Betracht, wenn tatsächlich die Selbstgärung ein von dem sonstigen Ausbau der Hefe unabhängiger Prozefs wäre. Dies trifft aber nicht zu, sondern bei sonst guter Ernährung wird nur jener Anteil an Energieumsatz ablaufen, welcher eben neben der Kohlehydratzerlegung dabei beobachtet wird, die Eiweifsspaltung.

Die Selbstgärung kann also wohl in einzelnen Resultaten das Endresultat beeinflussen, wenn zu reichlich Hefe benutzt wird, in der Mehrzahl der Fälle ist sie zu unbedeutend, um in thermischer Hinsicht bei der Messung zu stören.

Wir können und dürfen also die obigen Zahlen über die Gärungswärme als durch zufällige biologische Umstände unbeeinflufst ansehen.

Auf die biologischen Eigentümlichkeiten des Lebensprozesses der Hefezellen werde ich in der nächsten Abhandlung eingehen.


3 2044